

СЕВЕРО-ЗАПАДНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ИМ И.И. МЕЧНИКОВА

На правах рукописи

ЕГОРОВА АЛЕКСАНДРА АЛЕКСЕЕВНА

ДЕЙСТВИЕ ГИСТАМИНА И СЕРОТОНИНА НА МОТОРИКУ
ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ В НОРМЕ
И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

03.03.01– физиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор Марьянович А.Т.

Санкт-Петербург

2015

ОГЛАВЛЕНИЕ	Стр.
Стр. ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1. МОТОРНАЯ ФУНКЦИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ (обзор литературы).....	13
1.1. Структурно-функциональные элементы лимфатической системы.....	13
1.2. Гистологическое строение лимфатического сосуда.....	16
1.3. Сократительная активность лимфатического сосуда.....	19
1.4. Регуляция сократительной активности лимфатического сосуда.....	23
1.5. Сократительная активность брыжеечного лимфатического сосуда в условиях перитонита	43
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	47
2.1. Выбор объекта исследования.....	47
2.2. Моделирование перитонита.....	47
2.3. Приготовление препаратов для исследования.....	48
2.4. Солевые растворы: состав, температура, эндолимфатическое давление, рН.....	50
2.5. Регистрация сократительной активности лимфангионов.....	51
2.6. Фармакологическое воздействие на мембрану и внутриклеточные сигнальные системы.....	52
2.7. Характеристика экспериментального материала, объем.....	56
Глава 3. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГИСТАМИНА НА ИНТАКТНЫЕ ЛИМФАНГИОНЫ.....	55
3.1. Действие гистамина на спонтанную фазную сократительную функцию лимфатических сосудов.....	55
3.2. Действие гистамина на изолированные интактные лимфатические сосуды в условиях блокады специфических рецепторов.....	57
3.3. Влияние гистамина на лимфангионы без эндотелия и в условиях блокады синтеза NO.....	60
3.4. Влияние гистамина на лимфангионы в условиях блокады синтеза простагландинов.....	63

3.5. Действие гистамина на сократительную активность лимфатических сосудов в условиях блокады внутри- и внеклеточных источников кальция.....	65
Глава 4. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ СЕРОТОНИНА НА ИНТАКТНЫЕ ЛИМФАНГИОНЫ.....	74
4.1. Действие серотонина на спонтанную фазную сократительную функцию интактных лимфатических сосудов.....	74
4.2. Действие серотонина на изолированные интактные лимфатические сосуды в условиях применения блокаторов специфических и не специфических рецепторов.....	76
4.3. Влияние серотонина на лимфангионы без эндотелия и в условиях блокады синтеза NO.....	79
4.4. Влияние серотонина на лимфангионы в условиях блокады синтеза простагландинов.....	82
4.5. Действие серотонина на сократительную активность лимфатических сосудов в условиях применения блокаторов внутри- и внеклеточных источников кальция.....	83
Глава 5. ОТДЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ГИСТАМИНА И СЕРОТОНИНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФАНГИОНОВ ПРИ ПЕРИТОНИТЕ, А ТАКЖЕ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ АМИКАЦИНА И ЦЕФТРИАКСОНА.....	93
5.1. Клиническая, патологоанатомическая картина перитонита и результаты вскрытия экспериментальных животных.....	93
5.2. Характеристика фазной активности лимфатических сосудов при перитоните.....	93
5.3. Действие гистамина на спонтанную фазную сократительную функцию лимфатических сосудов при перитоните.....	94
5.4. Действие серотонина на спонтанную фазную сократительную функцию лимфатических сосудов при перитоните.....	97
5.5. Действие амикацина на моторику интактных лимфатических сосудов и при перитоните.....	99

5.6. Действие цефтриаксона на моторику интактных лимфатических сосудов и при перитоните	102
5.7. Действие гистамина на моторику лимфатических сосудов при перитоните в условиях применения амикацина.....	105
5.8 Действие серотонина на моторику лимфатических сосудов при перитоните в условиях применения амикацина.....	108
5.9 Действие гистамина на моторику лимфатических сосудов при перитоните в условиях применения цефтриаксона.....	111
5.10 Действие серотонина на моторику лимфатических сосудов при перитоните в условиях применения цефтриаксона.....	113
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	121
ВЫВОДЫ.....	126
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

В организме человека и теплокровных животных лимфатическое русло выполняет важную роль в поддержании гомеостаза интерстициального пространства. Лимфатическая система осуществляет транспорт воды, солей и коллоидов из интерстициальной среды в системную циркуляцию, выполняет депонирующую функцию, иммунную функцию, участвует в гемопозе, может принимать участие в перераспределении жидкости между венозным и лимфатическим руслом [95, 195]. Одной из гомеостатических констант, регулируемых лимфатической системой, является поддержание постоянства гидростатического давления в интерстициальном пространстве. Степень гидратации интерстициального пространства зависит от интенсивности процесса фильтрации и уровня реабсорбции жидкости из интерстиция. Для последнего процесса немаловажной является сократительная активность лимфатических сосудов, так как лимфатическая система – второй (после венозного) путь оттока интерстициальной жидкости (в виде лимфы). Установлено, что адекватный лимфообразованию уровень лимфотока зависит от фазной активности и уровня тонуса лимфатических сосудов [61].

В XX веке у лимфологов сложилось представление, что основным фактором движения лимфы по сосудам является собственная сократительная активность лимфангионов, которая модулируется влиянием различных факторов [25, 61]. Из них наиболее весомое действие на местном уровне оказывают гуморальные факторы [61, 259]. В мезентериальном регионе среди множества гуморальных факторов выраженное влияние на лимфоток обнаружено у гистамина и серотонина [132, 152, 154].

Изменение параметров сократительной активности лимфатических сосудов под действием гистамина и серотонина освещалось в литературе неоднократно, однако механизмы их действия исследованы недостаточно. Известно, что влияние

гистамина и серотонина на моторику лимфангионов может осуществляться путем прямого действия на миоциты и через изменение синтеза эндотелиальными клетками NO и эндотелиального гиперполяризующего фактора [117, 129, 150]. Роль эндотелиальных факторов в эффектах гистамина и серотонина раскрыта не полностью.

Отчетливое стимулирующее влияние гистамина и серотонина на лимфатические сосуды создает предпосылки для исследования различных источников кальция, активируемых для стимуляции сократительной активности лимфатических сосудов [173, 179]. Источники кальция, используемые гистамином и серотонином для усиления сократительной активности лимфатических сосудов, исследованы недостаточно полно.

Перспективным представляется изучение сократительной активности лимфатических сосудов при различных нефизиологических состояниях [30]. Исследование функциональных характеристик сократительной активности лимфатических сосудов в условиях, отличных от нормальных, проводилось на фоне действия одного из изучаемых факторов на интактный объект [38, 53]. Изложенная во второй главе методика моделирования позволяет оценить влияние исследуемого фактора на объект после комплексного действия различных компонентов патологического процесса, что более точно отражает изменение в реактивности изучаемого объекта.

Параметры моторики лимфангионов, определяющие лимфодинамику, при патологических состояниях, в частности при перитоните, изучены недостаточно полно [15, 57, 80]. При этом состояние моторики лимфангионов определяет время экспозиции антибактериального препарата в очаге перитонита. К настоящему времени имеются лишь отдельные сведения о реакциях интактных лимфатических сосудов на действие антибиотиков [3, 33, 36]. Учитывая тот факт, что лечение перитонита в настоящее время проводится с использованием методов эндолимфатической и лимфотропной терапии [80, 82, 86, 87], требуется более детальное исследование реакций лимфатических сосудов на действие антибиотиков. В связи с этим представляется актуальным исследование состояния

сократительной активности лимфатических сосудов в условиях моделирования перитонита [82, 88]. Следует отметить также, что лимфангионы при терапии перитонита подвергаются сочетанному влиянию гистамина и серотонина и антибактериальных препаратов, используемых для терапии перитонита. Изучение реакций лимфатических сосудов на совместное действие указанных факторов на моторику ранее не проводилось. При этом данная методология предполагает оценку не только состояния реактивности лимфатических сосудов, но и поиск способов коррекции нарушений лимфооттока в условиях перитонита.

Все эти нерешенные вопросы определили цель и задачи данного исследования.

Цель исследования

Раскрыть механизмы действия гистамина и серотонина на моторику лимфатических сосудов в норме и при перитоните.

Задачи исследования

1. Исследовать эндотелийзависимые и миогенные механизмы действия гистамина и серотонина на интактные лимфатические сосуды.
2. Установить источники кальция, активируемые гистамином и серотонином в интактных лимфатических сосудах.
3. Установить параметры сократительной активности мезентериальных лимфатических сосудов в условиях перитонита.
4. Исследовать реактивность лимфатических сосудов к действию гистамина и серотонина при экспериментальном перитоните.
5. Исследовать реактивность лимфатических сосудов к гистамину и серотонину на фоне действия антибактериальных препаратов при перитоните.

Научная новизна

В исследовании впервые получены данные, свидетельствующие о том, что гистамин активирует H_1 -рецепторы на миоцитах лимфатических сосудов, что сопровождается повышением концентрации цитозольного кальция в результате поступления иона по потенциалзависимым каналам L-типа и активации внутриклеточных IP_3 -чувствительных депо Ca^{2+} с последующим усилением моторики лимфангионов. Действие гистамина на H_2 -рецепторы эндотелиоцитов лимфатических сосудов вызывает повышение синтеза оксида азота и простагландинов, что приводит к ингибированию моторики лимфангионов.

Впервые установлено, что стимулирующее действие серотонина на лимфатические сосуды осуществляется посредством активации специфических $5-HT_2$ -рецепторов и α_2 -адренорецепторов, локализованных преимущественно на эндотелиоцитах. Механизм действия $5-HT$ связан с ингибированием синтеза NO и простагландинов. Активация сократительного аппарата посредством $5-HT$ осуществляется путем увеличения концентрации цитозольного кальция в результате поступления последнего из интерстициального пространства по потенциалзависимым каналам L-типа и из внутриклеточных IP_3 -зависимых и рианодиновых депо.

Установлено, что перитонит вызывает ингибирование фазной активности лимфатических сосудов. Впервые установлено, что при перитоните изменяется реактивность к гистамину и серотонину.

Впервые установлено, что применение антибактериальных препаратов приводит к изменению характера ответных сократительных реакций лимфатических сосудов на действие гистамина и серотонина при перитоните.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Результаты проведенных исследований позволили раскрыть механизмы стимулирующего эффекта гистамина и серотонина на гладкомышечные клетки

брыжеечных лимфатических сосудов. Также изучены эндотелийзависимые реакции лимфатических сосудов на гистамин и серотонин, исследован простагландиновый механизм влияния указанных биогенных аминов. Полученные данные могут быть использованы в экспериментальных исследованиях процессов транспорта лимфы по магистральным сосудам в норме и при патологии, а также в учебном процессе в рамках дисциплины «нормальная физиология». Исследована реактивность лимфатических сосудов к гистамину и серотонину в условиях перитонита, а также совместное действие указанных биогенных аминов и антибактериальных препаратов на лимфангионы при перитоните. Последнее обстоятельство имеет также и практическое применение при разработке комплексных мероприятий для профилактики осложнений антибактериальной терапии, что способствует дальнейшему развитию клинической лимфологии.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационного исследования послужили труды зарубежных и отечественных лимфологов, посвященные вопросам регуляции сократительной активности лимфатических сосудов, в частности, гуморальным механизмам, и влиянию на моторику различных фармакологических препаратов, а также работы анатомов и патоморфологов, изучавших вопросы строения лимфатической системы.

Применялись экспериментальные методы – регистрация сократительной активности лимфангионов в изометрических условиях на установке Pressure Myograph System 110P (Danish Myo Technologies) в условиях перфузии, моделирование перитонита путем введения в брюшную полость каловой смеси, метод сравнения (сравнивали фоновые параметры моторики с полученными при действии тестируемых веществ) и, для оценки результатов, применялись общенаучные методы (анализ, синтез, и др.).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Гистамин стимулирует моторику лимфангиона по следующему механизму: через H_1 -рецепторы на миоцитах вызывает поступление ионов кальция по потенциалзависимым каналам L-типа и активирует внутриклеточные IP_3 -чувствительные депо, что ведет к росту концентрации кальция в цитозоле и сокращению гладкомышечных клеток. Через H_2 -рецепторы на эндотелиоцитах гистамин усиливает синтез NO и простагландинов и подавляет моторику.

2. Серотонин стимулирует моторику лимфангионов двумя путями:
а) через $5-HT_2$ рецепторы и α_2 -адренорецепторы на эндотелиоцитах вызывает поступление ионов кальция по потенциалзависимым каналам L-типа, активирует внутриклеточные IP_3 -чувствительные и риадинзависимые депо кальция, что ведет к росту концентрации кальция в цитозоле и сокращению гладкомышечных клеток;

б) снижает синтез NO эндотелиоцитами, и простагландинов стенкой лимфатического сосуда, что также способствует сокращению гладкомышечных клеток.

3. При перитоните сократительная активность лимфатических сосудов ниже, их чувствительность к гистамину и серотонину меняется: оба биогенных амина подавляют сократительную активность. В этих условиях антибиотик амикацин в высоких концентрациях стимулирует моторику лимфангионов, а цефтриаксон ее подавляет. На фоне амикацина ингибирующее действие гистамина и серотонина уменьшается, на фоне цефтриаксона – не изменяется.

Степень достоверности и результатов и личный вклад автора

Достоверность научных положений и выводов в диссертации обеспечена применением комплекса взаимодополняющих методик, адекватных цели и задачам исследования, использованием большого объема фактического материала, его анализом, корректным применением методик эмпирического

исследования и статистической обработки данных. В работу включены материалы собственных исследований за 2007-2013 г.г. Планирование экспериментов, сбор и статистическую обработку полученных результатов автор осуществляла лично. Методическую помощь при получении экспериментального материала, представленного в диссертации оказал зав. лабораторией экстремальной физиологии ФГУП "Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека" Федерального медико-биологического агентства России, к.м.н Петунов С.Г.

Реализация и апробация работы

Полученные данные используются в научной и педагогической деятельности кафедры нормальной физиологии СЗГМУ им И.И. Мечникова и патологической физиологии СЗГМУ им И.И. Мечникова.

По результатам исследования внесены дополнения в лекцию «Лимфатическая система» и практическое занятие «Физиология кровеносных и лимфатических сосудов» на кафедре нормальной физиологии и в практическое занятие «Воспаление» на кафедре патологической физиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на научно-практической конференции «Исследования и разработки по приоритетным направлениям в медицине» (СПб, 2008), II Съезде физиологов СНГ (Кишинев, 2008), научно-практической конференции «Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения больных в многопрофильном лечебном учреждении» (СПб, 2009), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем» (СПб, 2009), III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медико-физиологические проблемы экологии человека» (Ульяновск, 2009), XXI Съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга, 2010), VII Съезде Казахского физиологического общества с международным участием (Алма-Ата,

2011), научно-практической конференции молодых ученых «Трансляционная медицина: от теории к практике» (СПб, 2013), IV Съезде лимфологов России (Москва, 2012), V Съезде лимфологов России (Москва, 2014).

Материалы диссертации использованы при составлении отчета о НИР СЗГМУ им И.И. Мечникова по теме № 2.99.259 п.12.

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 20 печатных работ, в том числе 4 статьи в отечественных реферируемых журналах (28 печатных листов).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, характеристики материалов и методов исследования, трех глав результатов исследования, обсуждения результатов, выводов, списка литературы, включающего 88 источников на русском и 213 на иностранных языках. Диссертация иллюстрирована 30 таблицами и 35 рисунками.

Глава 1. МОТОРНАЯ ФУНКЦИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Структурно-функциональные элементы лимфатической системы

Лимфатическая система является важной составной частью сосудистой системы человека и высших позвоночных и состоит из лимфатических капилляров, посткапилляров, лимфатических сосудов и узлов [34, 43, 100].

Лимфатические капилляры – начальные элементы лимфатической системы, которые, в отличие от кровеносных, начинаются слепо и характеризуются по сравнению с кровеносными капиллярами гораздо большим количеством [35, 79, 114]. Стенка инициальных лимфатических капилляров состоит из очень тонкого слоя эндотелиальных клеток [35, 101, 148]. Процесс образования лимфы происходит в широко разветвленной сети лимфатических капилляров, окруженных интерстициальным пространством [112, 163]. Интерстициальное пространство представляет собой сеть коллагеновых и эластических волокон, заполненную гелеподобным веществом, в состав которого входят белки гликозаминогликаны (гиалуроновая и хондроитинсерная кислоты, гепарин), различные ионы и вода [73, 112, 289]. В лимфатических капиллярах лимфообразование осуществляется в результате резорбции воды, белка и высокомолекулярных веществ из интерстициального пространства [1, 112, 115].

Эндотелиальные клетки стенки лимфатических капилляров инициальных лимфатических сосудов называют «первичными» клапанами лимфатической системы [101, 148, 257]. Они располагаются черепицеобразно, что позволяет жидкости поступать из интерстициального пространства в лимфатические сосуды, но не выходить обратно [1, 35, 148].

Еще одной особенностью строения лимфатического капилляра является наличие якорных филаментов, которые прикрепляются к окружающим структурам и препятствует спадению лимфатического капилляра при невысоком

уровне лимфообразования, и, как следствие, низком уровне трансмурального давления [1, 111, 113].

Существует несколько теорий, объясняющих процесс лимфообразования. По теории А. Гайтона лимфообразование происходит в результате наличия небольшого отрицательного градиента гидростатического давления в лимфатических капиллярах по отношению к интерстициальному пространству [163]. Другая теория объясняет процесс образования лимфы поступлением в капилляры белков из интерстициального пространства, что приводит к увеличению онкотического давления в капиллярах по сравнению с интерстициальным пространством и стимуляции резорбции воды и ионов [10, 112, 183]. Теория «инициального лимфатического цикла» отводит главную роль в процессе лимфообразования фазным сокращениям лимфатических сосудов, которые создают отрицательное гидростатическое давление в лимфатических капиллярах [1].

Далее образовавшаяся лимфа поступает по сети лимфатических капилляров во внутриорганные сплетения к посткапиллярам и мелким внутриорганным лимфатическим сосудам [43, 292]. В посткапиллярах и лимфатических сосудах отмечено появление клапанов, препятствующих обратному току лимфы и представляющих собой по своему гистологическому строению складки внутренней оболочки [14, 297]. Стенка посткапилляров имеет, в отличие от капилляров, базальную мембрану [35, 58]. Строение стенки внутриорганных лимфатических сосудов усложняется появлением слоя миоцитов. В стенке внеорганных лимфатических сосудов количество миоцитов растет по ходу лимфотока [18, 22].

Внеорганные лимфатические сосуды приносят лимфу к регионарным лимфатическим узлам и, в количестве двух-четырех, перфорируют капсулу обычно в косом направлении на выпуклой стороне лимфатического узла. Миоциты лимфатических сосудов переходят в капсулу, а эндотелий сосудов переходит в эндотелий краевого синуса лимфатического узла [19]. Благодаря наличию миоцитов в капсуле и трабекулах лимфатический узел обладает

сократительной активностью и является одним из активных участников лимфотока [28, 29]. Лимфа покидает узел через выносящие сосуды, которые локализуются в области его ворот на стороне, противоположной вхождению приносящих сосудов. Количество выносящих сосудов всегда меньше, чем приносящих, а диаметр больше. Приносящие и выносящие лимфатические сосуды иногда могут быть связаны анастомозами, расположенными над поверхностью лимфатического узла. В этом случае часть лимфы может проходить, минуя узел [31]. Также в лимфатических узлах экспериментально доказан обмен жидкими фазами между кровью и лимфой [40].

Заканчивается лимфатическая система двумя крупными коллекторами лимфы – грудным и правым лимфатическим протоками, которые доставляют лимфу в крупные вены шеи – в область слияния левой подключичной и внутренней яремной вены и правую подключичную вену соответственно [28, 43].

Лимфатическая система участвует в выполнении ряда жизненно важных функций в организме [43]. Возврат воды, солей и коллоидов из интерстициального пространства в кровеносное русло осуществляется лимфатическим руслом [1]. Таким образом, резорбционная, дренажная и транспортная функции являются ключевыми для поддержания гомеостаза гидростатического давления и баланса белка в интерстициальном пространстве [26, 296]. В лимфатических узлах осуществляется гемопоэз [28]. Лимфатическая система является барьером на пути инфекционных агентов и токсинов из интерстициального пространства в системный кровоток [290]. Лимфатические узлы принимают участие в перераспределении жидкости между венозным и лимфатическим руслом, а также способны депонировать лимфу [28, 40]. В научной литературе сформировалось понятие о комплексной дренажно-детоксикационной функции лимфатической системы, где центральные отделы – крупные коллекторные стволы – выполняют в большей степени резервуарную функцию, а на регионарном уровне осуществляются транспортная и детоксикационная функции [29].

Все вышесказанное создает предпосылки для дальнейшего изучения сократительной функции лимфатических сосудов как одного из ключевых элементов лимфотока в обычных условиях и при различных процессах, влияющих на образование лимфы, а, следовательно, и ее продвижение.

1.2. Гистологическое строение лимфатического сосуда

Строение лимфатического сосуда зависит от его локализации по отношению к лимфотоку. Если стенка капилляров и посткапилляров оформлена одним слоем эндотелиальных клеток, то лимфатические сосуды имеют более сложное строение. В инициальных лимфатических сосудах стенка представлена эндотелиоцитами, окруженными слоем соединительной ткани, и характеризуется наличием клапанов также как и стенка посткапилляров [58]. В более крупных сосудах определяются три оболочки – внутренняя, средняя и наружная [61]. Внутренняя оболочка состоит из эндотелиоцитов, под которыми находится тонкий субэндотелиальный слой, состоящий из соединительной ткани и внутренней эластической сети [84]. Средняя оболочка состоит из гладкомышечных клеток расположенных в два слоя и эластических волокон [16]. Количество мышечных волокон в средней оболочке варьибельно. Волокна имеют различное направление хода и толщину. В наружной соединительнотканной оболочке определяются продольные пучки гладкомышечных клеток, а также эластические и коллагеновые волокна [260]. Коллагеновые волокна присутствуют во всех трех оболочках. Эластические и коллагеновые волокна внутренней, средней и наружной оболочек непосредственно связаны между собой и образуют единый каркас стенки сосуда. Отдельные эластические волокна и пучки коллагеновых волокон переходят из адвентиции в окружающую сосуд соединительную ткань [13, 197]. Таким образом, любые изменения в интерстициальном пространстве, окружающем сосуд, могут отражаться на состоянии его стенки [15, 23].

В стенке внутриорганных лимфатических сосудов находятся единичные миоциты [18]. Во внеорганных лимфатических сосудах миоцитов больше: по мере укрупнения сосуда гладкомышечные клетки объединяются в тонкий непрерывный слой [15, 16]. Количество миоцитов в стенке лимфатических сосудов увеличивается по ходу лимфотока не постепенно и не равномерно [98].

Изучение гистологических срезов стенки лимфатического сосуда показало, что миоциты в стенке сосуда располагаются в три слоя, при этом гладкомышечные клетки внутреннего и наружного слоя ориентированы продольно по отношению к оси сосуда, а среднего слоя – циркулярно [18, 20].

Исследования с применением методики «тотального препарата» показали, что миоциты внутреннего и наружного слоев стенки лимфангиона ориентированы по пологой спирали, а среднего слоя – по крутой спирали, угол которой по отношению к продольной оси сосуда в отдельных случаях приближается к 90° [20, 22, 217, 219].

Применение методики световой микроскопии позволило установить, что в лимфатических сосудах имеются участки сужений и расширений [16]. В участках сужения лимфатического сосуда локализуются клапаны, которые препятствуют ретроградному току лимфы [61]. Именно наличие клапанов позволило сформировать представление о структурно-функциональной единице лимфатического сосуда впоследствии получившей название лимфангион или клапанный сегмент [16, 180, 181].

По E. Horsman (1951), лимфангион (клапанный сегмент) представляет собой участок лимфатического сосуда между двумя клапанами. При этом в состав лимфангиона входит лишь дистальный клапан, а проксимальный клапан функционально относится к следующему лимфангиону [181].

Согласно представлениям H. Mislin (1971) клапанный сегмент состоит из стенки сосуда между проксимальным и дистальным валиками. Стенка сосуда представлена центральной мышечной манжеткой, а область клапана безмышечная [217, 218].

Несколько иной взгляд на конструкцию лимфангиона высказал В.М. Петренко (2008). Автор считает, что в состав лимфангиона входит не только стенка лимфатического сосуда, но и проксимальный и дистальный клапаны [67]. Таким образом, каждый клапан принадлежит двум соседним лимфангионам [66, 67]. Такое представление, по мнению автора, имеет более функциональный характер, так как позволяет рассматривать работу изолированного лимфангиона [68, 69].

Структурно-функциональные особенности лимфангионов позволяют подразделить их на два типа [18]. Первый тип – насосный – характеризуется наличием спонтанной активности и содержанием большого количества миоцитов в стенке, что создает предпосылки для активного транспорта лимфы. Второй тип лимфангионов характеризуется меньшим содержанием миоцитов в стенке сосуда, но большим количеством эластических волокон. Автоматической активностью данный тип лимфангионов не обладает и выполняет емкостную функцию. Для исследования регуляции транспортной функции лимфатических сосудов больший интерес представляет первый тип лимфангионов.

С позиции теории лимфангиона в стенке сосуда принято выделять три различных в функциональном плане участка [20]. Первый – мышечная манжетка, которая расположена в средней части лимфангиона и содержит значительное количество гладкомышечных клеток [18]. В области мышечной манжетки стенка лимфангиона имеет наибольшую толщину. Гладкомышечные клетки, расположенные в области мышечной манжетки, при их синхронном сокращении обеспечивают систолу лимфангиона [67, 69].

Второй участок – несокращающаяся или слабо сокращающаяся часть лимфангиона – расположен над клапаном и содержит небольшое количество мышечных элементов, а также сам клапан, как правило, двустворчатый. Клапан состоит из истонченной безмышечной створки и клапанного валика (место перехода створки в стенку лимфангиона) [297]. Сокращение мышцы клапанного валика способствует смыканию створок клапанов, что препятствует ретроградному току лимфы [13, 67].

Третья часть лимфангиона – это область клапанного синуса, расширение, расположенное проксимальнее клапана. Это наиболее тонкая часть стенки, содержащая единичные пучки гладкомышечных клеток и соединительнотканых белков, среди которых преобладает эластин [23, 71].

С точки зрения выполнения пропульсионной функции мышечная манжетка представляет собой наиболее значимую часть лимфангиона [98].

1.3. Сократительная активность лимфатического сосуда

1.3.1. Формы и параметры сократительной активности

Обнаружение ритмической сократительной активности лимфатических сосудов положило начало к его дальнейшему исследованию [43, 71, 153].

Регистрация сокращений изолированных сегментов лимфатических сосудов выявила две формы моторики гладкомышечных клеток стенки лимфангиона: фазные ритмические сокращения и тоническое напряжение, уровень которого может спонтанно изменяться [108, 245]. Благодаря фазным сокращениям лимфатический сосуд осуществляет пропульсионную функцию, уровень тонуса определяет емкостную характеристику лимфангиона и гидродинамическое сопротивление данного участка лимфотока [60, 64].

В зависимости от преобладания одной из форм сократительной активности выделяют два основных типа лимфангионов, один из которых – насосный – осуществляет (подобно сердцу) спонтанные фазные ритмические сокращения. Для другого типа лимфангионов, которые выполняет емкостную функцию, более характерная форма моторики – тонические реакции [22, 23].

Первый тип лимфангионов преобладает в краниальном отделе грудного протока, дистальном отделе переднего лимфатического протока крысы и в сосудах нижней конечности человека. Эти лимфангионы имеют сравнительно малую длину (3–4 мм), миоциты в стенке сосуда преимущественно ориентированы по крутой спирали [17]. Сосуды первого типа обладают

автоматией, а также высокой чувствительностью к факторам нервного и гуморального контроля. Тонический пул миоцитов данного типа лимфангионов представлен пучками, ориентированными по пологой спирали, и осуществляет медленные спонтанные сокращения [13, 18, 63].

Второй тип лимфангионов наблюдается в наддиафрагмальном отделе грудного протока и проксимальном отделе переднего лимфатического протока крысы и выполняет преимущественно емкостную функцию. Эти лимфангионы имеют большую длину (10 мм и более), не обладают спонтанной активностью, но развивают медленные волнообразные длительные сокращения [9, 17, 63].

Параметры спонтанной активности лимфатических сосудов и их изолированных сегментов – лимфангионов – к настоящему времени хорошо изучены. Методом прямой регистрации получены следующие значения частоты фазных сокращений в 1 мин для изолированных объектов: грудного протока крысы – 6–33; мезентериальных сосудов крысы и морской свинки взятых из тонкой кишки – 32–34, толстой кишки – 18–23, прямой кишки – 15–18; экстраорганных лимфатических сосудов молочной железы козы – 2–20; брыжеечных лимфатических сосудов крупного рогатого скота – 6–12; яремного лимфатического ствола собаки – 4–36 [60, 61, 64, 217, 218, 219, 229, 295].

Регистрация сократительной активности лимфатических сосудов *in vivo* показала, что в состоянии наркоза частота сокращений в 1 мин составила для брыжеечных лимфатических сосудов тонкой кишки морской свинки – 8–10, приносящих и выносящих подколенных лимфатических сосудов морской свинки – 10, брыжеечных лимфатических сосудов мыши и крысы – 1–2, брыжеечных лимфатических сосудов тонкой кишки крупного рогатого скота – 8–24 [17, 22, 60, 61, 121, 180, 295]. При местном обезболивании лимфатические сосуды стопы человека сокращались с частотой 4–5 в 1 мин [123].

Применение рентгенокинематографии показало, что грудной проток человека сокращается с частотой 10–15 в 1 мин, а его краниальный отдел имеет более низкую частоту активности – 5–7 в 1 мин [182].

В условиях перфузии с помощью видеокамеры в просвете сосуда выявлено, что частота сокращений мезентериальных лимфатических сосудов морской свинки составляет не менее 5 в 1 мин [120].

Отмеченные различия значений частоты сократительной активности изолированных лимфатических сосудов и объектов, изучаемых *in vivo*, объясняются отличиями методических условий проведения исследований, а также видовыми особенностями изучаемых объектов [65, 120, 123].

Амплитуда одиночных фазных сокращений лимфангионов также неодинакова и варьирует от 200–400 мг (1,96–3,92 мН) для брыжеечного лимфатического сосуда быка до 10–20 мг (98,1–196,1 мкН) для брыжеечных лимфатических сосудов белой крысы и определяется степенью развития мышечного слоя в стенке лимфатического сосуда [64, 217, 229].

1.3.2. Причины наличия спонтанной сократительной активности

Лимфатические сосуды обладают спонтанной (автоматической) активностью, т.е. способностью генерировать потенциалы действия и, в результате, осуществлять ритмические сокращения при отсутствии внешних воздействий [165, 196]. С помощью различных методических подходов (одиночный и двойной «сахарозный мостик», внутриклеточная регистрация) было установлено, что одиночные (фазные) сокращения лимфатических сосудов инициируются одиночными потенциалами действия, свойства которых по ряду параметров сходны с потенциалами действия клеток миокарда [8, 54].

Изучение электрической активности гладкомышечных клеток изолированных лимфангионов выявило наличие спонтанно возникающих потенциалов действия амплитудой $3,8 \pm 1,3$ мВ и длительностью 200–250 мс, предшествующих сокращению [55, 233].

Механизм автоматии в лимфатических сосудах связан со спонтанной деполяризацией плазматической мембраны, представляющей собой монофазную волну [265, 276]. Она непосредственно не вызывает сокращение лимфатических

сосудов, но приводит к генерации ПД. Длительность спонтанной деполяризации определяется активностью каналов плазматической мембраны и определяет частоту автоматической активности [56].

По поводу природы водителя ритма в лимфангионе единого мнения нет.

Наиболее широкое признание получила миогенная теория, согласно которой источником спонтанной активности являются сами миоциты, обладающие особыми свойствами мембраны. Пейсмекеры характеризуются большим содержанием митохондрий по сравнению с не обладающими автоматией гладкомышечными клетками и локализуются преимущественно в мышечной манжетке [99, 206].

Van Helden D.F. (1993) считает, что миогенную природу пейсмекеров доказывает факт ее генерации в условиях денервации и механического удаления эндотелия [276].

В конце XX века были получены электрофизиологические доказательства, что пейсмекерами являются не миоциты, а интерстициальные клетки Кахаля (ИСС) и, в лимфангионах, ИСС-подобные клетки, которые локализуются в среднем слое стенки лимфатического сосуда [233].

Механизм спонтанной деполяризации пейсмекеров связан с поступлением Ca^{2+} из внутриклеточных депо, так как в условиях хелатирования цитозольного Ca^{2+} спонтанная активность прекращается [276]. В бескальциевом растворе автоматическая активность исчезает [55]. Блокада Ca^{2+} каналов также подавляет электрическую активность гладкомышечных клеток [186].

Поступление из интерстициальной жидкости Ca^{2+} активирует внутриклеточные IP_3 -зависимые, но не рианодиновые депо кальция [265, 282].

IP_3 -рецепторы – семейство лигандуправляемых селективных Ca^{2+} каналов, в эндоплазматической сети клеток всех типов. Активность этих каналов регулируется не только IP_3 , но и другими лигандами, а также концентрацией Ca^{2+} в цитозоле, который присоединяясь к сайту связывания приводит к открытию канала [188, 272]. Повышение концентрации цитозольного Ca^{2+} вызывает открытие Ca^{2+} -зависимых Cl^- каналов. Выход ионов хлора деполяризует

мембрану до уровня, необходимого для активации потенциалзависимых кальциевых каналов T- и L-типов [212].

Участие внутриклеточных депо кальция в работе пейсмекера убедительно показано в работе с применением блокатора Ca^{2+} -АТФ-азы внутренних мембран клетки – циклопиазоновой кислоты. Применение последней приводило к уменьшению частоты и амплитуды спонтанной деполяризации мезентериальных лимфатических сосудов морской свинки посредством двух последовательно активируемых механизмов. Вначале зарегистрировано повышение синтеза оксида азота сосудистым эндотелием, что приводило к гиперполяризации мембраны. Второй механизм включался позднее и был связан с непосредственным ингибированием Ca^{2+} -АТФ-аз эндоплазматического ретикулюма, уменьшению запасов Ca^{2+} и дополнительному снижению параметров спонтанной деполяризации [232].

Несмотря на то, что исследователи рассматривают в качестве источника спонтанной активности разные клеточные образования, они едины в своем суждении, что лимфангионы способны проявлять сократительную активность в отсутствие влияния нервных и гуморальных факторов. Также присутствует единое мнение о необходимости для генерации потенциала действия поступления внеклеточного Ca^{2+} , который активизирует выход Ca^{2+} из внутриклеточных источников [50, 206, 259].

1.4. Регуляция сократительной активности лимфатического сосуда

Движение лимфы по лимфатическим сосудам определяется внемлимфатическими и внутримлимфатическими факторами [61]. К внемлимфатическим силам относят сокращения скелетных мышц, пульсацию артерий и вен, перистальтику желудочно-кишечного тракта, дыхательные движения грудной клетки [195]. На данный момент доминирует точка зрения, что внутримлимфатические силы в большей степени определяют лимфоток [61, 202].

Со второй половины XX века в рамках изучения внутрилимфатических сил исследователями рассматривались различные механизмы регуляции сократительной активности лимфатических сосудов. К настоящему времени установлено, что параметры моторики лимфангионов зависят от следующих факторов: уровня лимфообразования в конкретном лимфатическом регионе, воздействия нервных и гуморальных факторов, также морфологического и функционального состояния лимфангионов [27, 108, 284, 296].

1.4.1. Миогенная ауторегуляция

Основным видом регуляции сократительной активности миоцитов лимфангионов принято считать миогенную или ауторегуляцию, которая осуществляется активацией растяжением механочувствительных кальциевых каналов наружной мембраны [51, 215, 225]. Увеличение амплитуды и длительности ПД, вызванное увеличением трансмурального давления, приводит к росту амплитуды и времени сокращения лимфатических сосудов [52].

Систола дистального лимфангиона вызывает увеличение наполнения проксимального. В результате наблюдается последовательное сокращение цепочки лимфангионов, которое приводит к продвижению лимфы в проксимальном направлении [294]. Как показали наблюдения *in vivo* и *in vitro*, эта форма моторики является наиболее распространенной для лимфатических сосудов [37, 201, 218].

Ауторегуляция в нормальных условиях обеспечивает соответствие параметров сократительной активности лимфатических сосудов уровню лимфообразования в органах и тканях, что позволяет поддерживать постоянство гидростатического давления в интерстициальном пространстве [51, 52, 225, 298]. При нефизиологических увеличениях объема внутрисосудистой лимфы может наблюдаться относительная недостаточность клапанного аппарата. В таких условиях возможен обратный ток лимфы и развитие отека интерстициального пространства [157, 203].

Установлено, что благодаря передаче электрических и механических сигналов от дистального лимфангиона проксимальному наблюдается согласованное сокращение соседних лимфангионов, которое осуществляется также посредством координированной работы клапанов соседних лимфангионов [66, 125, 297].

Лимфатические сосуды различной регионарной принадлежности реагируют на увеличении эндолимфатического давления не одинаково [250, 251].

В изолированных брыжеечных лимфатических сосудах и грудном протоке крысы увеличение объема перфузии приводит к уменьшению частоты и амплитуды фазных сокращений. Механизм снижения фазной активности частично осуществлялся путем увеличения синтеза оксида азота эндотелиоцитами в результате напряжения сдвига. Грудной проток, по сравнению с брыжеечными лимфатическими сосудами, более чувствителен к объему тока лимфы [159].

В перфузируемых пренодальных лимфатических сосудах быка увеличение трансмурального давления от 3 до 6 см водного столба (H_2O) вызывает увеличение силы фазных сокращений без статистически значимых хронотропных реакций. Пропульсионная способность достигает своего максимума при величине трансмурального давления 6-9 см водного столба и незначительно снижается при увеличении давления до 15 см H_2O [118].

В постнодальных лимфатических сосудах быка снижение транспортной функции наблюдается при трансмуральном давлении 10 см. H_2O [118].

1.4.2. Влияние автономной нервной системы на сократительную активность лимфатического сосуда

Влияние автономной нервной системы на моторику лимфатических сосудов зависит от типа иннервирующего отдела и плотности иннервации, которая определяются регионарной принадлежностью сосуда и [25, 62, 209, 210]. Грудной проток и брыжеечные лимфатические сосуды имеют двойную

иннервацию – симпатическую и парасимпатическую (блуждающий нерв), в то время как крупные лимфатические сосуды конечностей иннервируются в основном симпатическим отделом нервной системы [18, 228]. Лимфатический сосуд имеет афферентную и эфферентную иннервацию [21]. Афферентные волокна присутствуют во всех слоях стенки, а эфферентные только на границе наружной и средней оболочки лимфатического сосуда [209, 210, 268]. Аксоны эфферентных нейронов широко ветвятся в стенке лимфатического сосуда и, в ряде случаев, иннервируют до 4-х его сегментов, что обеспечивает координированные сокращения цепочки лимфангионов [61, 125]. В условиях денервации, вызванной перерезкой n. vagus, ритм сокращения мезентериальных лимфатических сосудов становится нерегулярным, а движения клапанов непоследовательными [140].

Исследование эфферентной иннервации лимфатических сосудов обнаружило наличие адренергических, холинергических и пептидергических волокон [140, 228, 266]. В стенке грудного протока собаки выявлены α -адренергические и холинергические, но не NO-ергические волокна [184, 207].

Иннервация лимфатического региона более плотная в области перехода лимфатических сосудов малого диаметра в более крупные [19, 28].

Неравномерно иннервирован и сам лимфангион: в стенке лимфангиона адренергические нервные волокна в наибольшем количестве присутствуют в манжетке, а наименьшую плотность иннервации имеет клапанный синус, что, по мнению морфологов, связано с наличием или отсутствием управляемых структур – миоцитов [65].

Изолированные мезентериальные лимфатические сосуды быка реагируют на трансмуральную стимуляцию в зависимости от локализации электрода в лимфангионе: действие стимулятора на манжетку лимфангиона вызывает усиление фазной активности путем влияния норадреналина на постсинаптические α -адренорецепторы, а трансмуральная стимуляция в области клапана вызывает ингибирование сократительной активности лимфангионов путем активации постсинаптических β -адренорецепторов [209, 210]. В области

клапана лимфангиона локализуются постсинаптические β_1 - и β_2 -адренорецепторы. β_2 -адренорецепторы в лимфатических сосудах связаны с протеинкиназой А, активация которой приводит к открытию АТФ-зависимых K^+ каналов с последующим развитием гиперполяризации [280].

В мезентериальных лимфатических сосудах овцы электрическая стимуляция оказывала положительное хронотропное влияние, которое было опосредовано активацией постсинаптических α -адренорецепторов медиатором, природа которого пока неизвестна, но он не является ни норадреналином, ни АТФ [167].

В паховых лимфатических сосудах человека стимулирующая адренергическая иннервация отсутствует, что подразумевает наличие других типов медиаторов [123].

Несмотря на то, что морфологи выявили холинергическую иннервацию лимфатических сосудов, по-видимому, в них так же, как и в кровеносных сосудах, влияние автономной нервной системы в основном определяется симпатическим отделом [140]. Исследование иннервации грудного протока собаки показало, что рецепторы к ацетилхолину в стенке сосуда присутствуют, но не иннервируются [207]. Схожие результаты получены в изолированных мезентериальных лимфатических сосудах быка – влияние ацетилхолина мало изменяло фазную активность [210, 268].

С помощью электронной микроскопии в субэндотелиальном слое стенки мезентериальных лимфатических сосудов крупного рогатого скота обнаружены многочисленные немиелинизированные нервные волокна, которые находятся в тесном контакте с эндотелиальными клетками. Их аксоны не имеют шванновских клеток и содержат множество мелких везикул. Применение моноклональных антител позволило определить, что эти волокна выделяют такие нейротрансмиттеры, как субстанция Р и кальцитонин-связанный пептид. Было высказано предположение, что эти волокна осуществляют механорецепцию: они реагируют на величину эндолимфатического давления, и

при его изменениях, локально выделяют субстанцию Р и кальцитонин-связанный пептид, которые могут вызвать вазоконстрикцию [268].

В лимфангионах выявлена опиоидергическая иннервация. Опиоидные пептиды стимулируют сократительную активность манжетки и клапанов лимфангионов. Выделяют слабое, среднее и сильное стимулирующее влияние, сопровождавшееся увеличением частоты сокращений лимфатических сосудов на 1-10, 11-20 и 21-35 мин⁻¹ соответственно. Также опиоиды оказывают протекторное действие на мембраны тучных клеток, вызывая снижение их дегрануляции, что уменьшает регулирующее сократительную активность лимфатических сосудов влияние гистамина, серотонина и гепарина, что делает влияние опиоидергических нервов более значимым при различных патологических процессах [7, 81].

Внутрибрюшинное введение наркотизированной крысе пептидного лимфостимулятора лейэнкефалина (40 мкг/кг) через 30 мин приводило к усилению лимфотока в устье грудного протока на 300-600% [7].

1.4.3. Гуморальная регуляция

Лимфатические сосуды чувствительны к действию огромного количества гуморальных факторов, которые могут влиять непосредственно на гладкомышечные клетки и через эндотелиоциты [230, 270].

Установлена высокая реактивность лимфатических сосудов к изменению содержания кислорода и протонов водорода: ацидоз и снижение напряжения кислорода в интерстициальном пространстве ингибируют сократительную активность грудного протока крысы [38, 53].

1.4.3.1. Эндотелиальные факторы

Регуляция сократительной активности лимфатических сосудов, как и кровеносных, осуществляется с обязательным участием эндотелиоцитов [150,

151, 166]. Эндотелиальные клетки образуют внутреннюю выстилку сосудов, по этой причине реагируют на изменение скорости лимфотока (так называемое напряжение сдвига), растяжение стенки сосуда, действие химических агентов и другие воздействия [145, 275, 279]. Эндотелий регулирует объем перфузии, процессы микроциркуляции и лимфообразования, гемостаз, воспалительные реакции, васкулогенез и ангиогенез посредством выделения различных факторов [159, 198, 279, 285].

Эндотелиальная выстилка имеет органоспецифичность, которая проявляется в различной антигенной характеристике клеток, а также выделении различных по химическим свойствам посредников [242]. Также в пределах одного региона эндотелиоциты могут иметь существенные различия по функциональным свойствам, таким как передача межклеточных сигналов с помощью ионов кальция. По этому реакции участков лимфатического русла на напряжение сдвига различны [60, 61].

Выделяемые эндотелием вещества разделяют на стимулирующие и ингибирующие сократительную активность [255]. Интактные эндотелиоциты синтезируют в основном вазодилататоры, к которым относят оксид азота (NO), простаглицлин (PGI₂) и эндотелиальный гиперполяризующий фактор [74, 159, 221, 224].

Синтез NO активизируется в результате усиления лимфотока, приводящего к напряжению сдвига, или посредством стимуляции эндотелиоцитов различными гуморальными факторами, например ацетилхолином или тромбоцит-активирующим ростовым фактором [159, 231, 235, 283]. Оксид азота образуется ферментом NOS (синтаза оксида азота), экспрессия которого в лимфангионе неравномерна – больше выражена на эндотелиоцитах клапанов лимфангиона [235]. NO образуется под влиянием указанного фермента из аминокислоты L-аргинина.

Обнаружены 3 изоформы NOS, которые локализуются в мембране различных типов клеток. В плазматической мембране эндотелиоцитов выявлена эндотелиальная форма фермента (eNOS). Аксоны клеток автономной нервной

системы содержат нейрональную изоформу фермента (nNOS), активность которой определяется концентрацией ионов кальция внутри клетки (Ca^{2+} связывается в цитозоле с кальмодулином и переводит фермент в активное состояние). Также выделяют так называемую индуцибельную (iNOS) форму фермента, которая находится в мембране макрофагов [104].

Увеличение синтеза NO вызывает изменение электрической активности лимфатических сосудов – удлинение фазы спонтанной деполяризации, что приводит к уменьшению количества пиков потенциалов действия и, как следствие, ингибированию сократительной активности [134, 221]. Механизм ингибирующего действия NO связан с активированием Ca^{2+} -зависимой гуанилатциклазы и увеличением выхода K^+ из клетки, что приводит к гиперполяризации плазматической мембраны и торможению работы сократительного аппарата гладкомышечных клеток [39].

Эндотелиальный гиперполяризующий фактор вызывает снижение пропульсионной функции в изолированном грудном протоке собаки путем активации гуанилатциклазы с последующим повышением концентрации в цитозоле цГМФ [255].

Из группы простагландинов (PG) наиболее мощным вазодилаторным действием выделяется простагландин I_2 или простаглицлин, механизм внутриклеточного пути сигнализации которого связан с протеином G_s , который вызывает рост концентрации цАМФ в клетке, что приводит к повышению проницаемости АТФ-зависимых Ca^{2+} -активируемых калиевых каналов с последующим развитием гиперполяризации [185, 227].

PGE_2 и PGE_1 ингибируют сократительную активность мезентериальных лимфатических сосудов быка. Механизм реакций авторами не раскрыт [227].

К наиболее характерным вазоконстрикторам эндотелиальной природы относят эндотелин-1 и $\text{PGF}_2\alpha$ [258, 301, 192].

Действие эндотелина-1 в концентрациях 10^{-10} и 10^{-9} М на ET_A рецепторы на миоцитах оказывает положительный хронотропный эффект в изолированных кольцах брыжеечных лимфатических сосудов быка; активация эндотелином-1

ET_B рецепторов, которые в основном расположены на эндотелиальных клетках, приводит к увеличению выделения оксида азота и ингибированию сократительной активности объекта [258].

Эндотелин-1 (ЕТ) в концентрации менее 10 нМ стимулировал сократительную активность мезентериальных лимфатических сосудов морской свинки через ET_A рецепторы на миоцитах. Внутриклеточный путь сигнализации ET_A рецепторов через G-белки связан с фосфолипазой C, выходом Ca²⁺ из внутриклеточных IP₃-зависимых депо и, в меньшей степени, поступлением кальция через потенциалзависимые каналы L-типа. В более высоких концентрациях эндотелин-1 (выше 10 нМ) вызывает спастическую констрикцию сосудов, причиной которой является избыток цитозольного Ca²⁺ [160, 169, 301].

В низких концентрациях эндотелин-1 усиливает или вызывает (не все препараты обладают исходной активностью) фазные сокращения сегментов изолированного грудного протока человека *in vitro* в изометрических условиях. Действие эндотелина-1 в высоких концентрациях повышает тонус исследуемого объекта. Механизм реакции авторами не раскрыт, но, по их мнению, связан с изменением концентрации цитозольного кальция [182].

Источник синтеза эйкозаноидов (простагландинов и лейкотриенов) – арахидоновая кислота также влияет на моторику лимфатических сосудов [191, 192]. Арахидоновая кислота в концентрациях 10⁻⁸–10⁻⁶ М вызывает констрикцию в изолированных пренодальных подвздошных лимфатических сосудах крысы в условиях перфузии под давлением 6 см H₂O – наблюдается уменьшение диаметра сосуда. PGE₂ (продукт метаболизма арахидоновой кислоты) в концентрациях 10⁻⁹–10⁻⁷ М вызывает вазодилатацию. Действие индометацина в концентрации 10⁻⁵ М полностью блокирует влияние арахидоновой кислоты, но не изменяет PGE₂-индуцированной вазодилатации в исследуемом объекте [221].

Изолированные лимфатические сосуды печени свиньи реагируют на действие, простагландина PGF₂ (TXA₂) дозозависимой констрикцией [168].

ТХА₂ в низких концентрациях повышает фазную активность и тонус в изолированном перфузируемом грудном протоке собаки, в высоких концентрациях - вызывает противоположно направленные реакции [134, 270].

В низких концентрациях ТХА₂ вызывает усиление фазных сокращений изолированного грудного протока человека в изометрических условиях, в высоких концентрациях – приводит к повышению тонуса [182].

PGF₂ в концентрациях 10⁻⁹–10⁻⁷ М приводит к увеличению диаметра пренодальных подвздошных лимфатических сосудов крысы через подавление активности протеинкиназы С [194, 221].

Болюсное введение лейкотриенов В₄, С₄ и D₄ в концентрациях 1 мкг и 10 мкг при эндартериальном пути поступления приводит к разнонаправленным и статистически мало значимым реакциям в лимфатическом русле передней лапы анестезированной собаки. Лейкотриены В₄, С₄ и D₄ по разному влияют на эндартериальное и эндолимфатическое давление. Лейкотриен В₄ увеличивает эндолимфатическое давление. Лейкотриен С₄ в той же концентрации увеличивает системное давление в магистральных сосудах артериального русла передней конечности, но не изменяет лимфатическое давление. Лейкотриен D₄ значительно увеличивает только эндартериальное давление [134].

1.4.3.2. Гормоны и БАВ

Действие гормонов стресса адреналина и норадреналина на лимфатические сосуды имеет видоспецифический характер. Лимфатические сосуды быка реагируют на действие норадреналина в двухфазно: в низких концентрациях (менее 10⁻⁶ М) наблюдается усиление сократительной активности связанное с активацией α-адренорецепторов, действие вещества в более высоких концентрациях ингибирует сократительную активность лимфангионов посредством β₁ и β₂-адренорецепторов [61, 119].

Адреналин увеличивает объем перфузата, вытекающего из изолированного грудного протока собаки [270], но не вызывает усиления лимфотока в грудном

протоке овцы при внутривенном введении [61]. Изолированные лимфатические сосуды печени свиньи реагируют на действие адреналина и норадреналина дозозависимой констрикцией [168]. Адреналин в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-8} М) вызывает усиление фазных сокращений в изолированных кольцах грудного протока человека в изометрических условиях, а в более высоких – приводит к повышению тонуса [182].

Адреналин и норадреналин вызывают констрикцию в пренодальных лимфатических сосудах передней лапы анестезированной собаки посредством активации α_1 - и α_2 -адренорецепторов [130].

Холинэргические влияния на моторику изолированных препаратов грудного протока собаки и мезентериальных лимфатических сосудов быка представляются не однозначными и зависят от концентрации ацетилхолина. Ацетилхолин в концентрациях 10^{-7} – 10^{-4} М вызывает увеличение частоты фазных сокращений обоих объектов, а в более низких концентрациях ингибирует сократительную активность [61].

Ацетилхолин в концентрациях $3 \cdot 10^{-8}$ – 10^{-5} М в изолированных брыжеечных лимфатических сосудах быка вызывает отрицательный хронотропный и инотропный эффект, который проявляется только в присутствии эндотелиоцитов через мускариновые рецепторы в мембране эндотелиоцитов посредством усиления синтеза оксида азота [293].

Ацетилхолин в концентрациях 10^{-7} – 10^{-4} М вызывает сокращение изолированных сегментов грудного протока собаки, влияние блокируется применением атропина ($5 \cdot 10^{-9}$ М) [253]. Релаксация ацетилхолином изолированного грудного протока собаки связана с выделением эндотелиального гиперполяризующего фактора и не зависит от влияния продуктов метаболизма арахидоновой кислоты [270].

Перфузируемые лимфатические сосуды передней лапы собаки реагируют на действие ацетилхолина в концентрациях 10^{-6} – 10^{-5} М вазоконстрикцией, которая приводит к повышению эндолимфатического давления [133].

Ацетилхолин при интралюминальном введении в 60% вызывал констрикцию в изолированных брыжеечных лимфатических сосудах морской свинки путем уменьшения синтеза NO сосудистым эндотелием. Ацетилхолин вызвал заметный рост цитозольного Ca^{2+} у механически отвечающих и не отвечающих сосудов. Причиной отсутствия реакции на ацетилхолин у 40% препаратов авторы связывают с поток индуцированным усилением выделения NO, которое подавляет эффект ацетилхолина [289].

Изолированный грудной проток человека в изометрических условиях на фоне преко́нстрикции норадреналином реагировал на действие ацетилхолина только в 20 % экспериментов снижением параметров фазной активности [182].

Механизм ингибирующего сократительную активность афферентных лимфатических сосудов подвздошных лимфоузлов крысы в условиях перфузии действия ацетилхолина в концентрациях от 10^{-7} до 10^{-5} М связан с увеличением синтеза эндотелиоцитами оксида азота и простагландинов [221]. Т. Ohhashi, в свою очередь, связывает ингибирующие сократительную активность реакции лимфатических сосудов на действие ацетилхолина с усилением синтеза эндотелиоцитами эндотелиального гиперполяризующего фактора [231].

Действие гепарина, как одного из местных регуляторных факторов, выделяемых лаброцитами, в лимфатических сосудах неоднозначно: полимер в концентрациях до 5 Ед/мл стимулирует сократительную активность изолированных лимфатических сосудов быка и крысы, в концентрации 5 Ед/мл может приводить как к стимуляции, так и торможению сократительной активности. Гепарин в концентрации 10-50 Ед/мл снижает параметры сократительной активности лимфангионов: наблюдается уменьшение амплитуды и частоты фазных сокращений на фоне снижения тонуса [49, 61].

Механизм стимулирующего влияния гепарина исследователи связывают с усилением выделения эндотелием такого вазоконстриктора, как эндотелин-1, который активизирует ET_A рецепторы на миоцитах [143]. На культуре эндотелиальных клеток быка показало, что влияние гепарина в высоких

концентрациях осуществляется посредством усиления выделения эндотелиоцитами оксида азота и, в меньшей степени, простаглицлина [174].

Синтетический препарат вещества Р, бомбезин (10^{-9} – 10^{-7} М), увеличивает спонтанную активность в изолированных сегментах лимфатических сосудов быка. Констрикторное влияние не блокируется α -адреноблокатором фентоламином ($3 \cdot 10^{-6}$ М), что свидетельствует о наличии другого механизма стимулирующего действия [269]. Более поздние исследования показали, что вещество Р в концентрации от 1 нМ до 1 мкМ вызывает эндотелийзависимое увеличение частоты сокращений изолированных мезентериальных лимфатических сосудов морской свинки, действуя NK₁-рецепторы (рецепторы к нейрокину-1), связанные с чувствительными к коклюшному токсину G-белками, которые активируют фосфолипазу A₂ и повышение концентрации ТХА₂ [246].

Изолированный грудной проток человека в изометрических условиях после прекопстрикции норадреналином реагирует на действие брадикинина расслаблением [182]. Брадикинин в концентрациях 10^{-6} – 10^{-5} М вызывает вазоконстрикцию и повышение эндолимфатического давления в перфузируемых сосудах передней лапы собаки [133]. Продольные сегменты изолированных мезентериальных лимфатических сосудов быка, находящиеся в изометрических условиях, реагируют на действие брадикинина в концентрациях от 10^{-4} – 10^{-6} М дозозависимой тонической констрикцией [230]. Использование метода сахарозного мостика позволило установить, что брадикинин вызывает увеличение количества пиков ПД, что приводит к повышению концентрации ионов кальция внутри клетки путем его поступления из интерстициального пространства и внутриклеточных депо [229].

Грудной проток овцы, в условиях прекопстрикции норэпинефрином реагирует на действие натрийуретического фактора в концентрациях до 1 нМ снижением частоты и амплитуды фазных сокращений [96].

В изолированном грудном протоке собаки в изометрических условиях под влиянием АТФ наблюдается дозозависимое расслабление [270]. Изолированные мезентериальные лимфатические сосуды морской свинки реагируют на действие

АТФ в концентрациях 10^{-8} – 10^{-3} М учащением ритма спонтанных сокращений [149]. Действие АТФ на P_2X и Y пуринорецепторы, вызывает повышение активности фосфолипазы A_2 , что приводит к увеличению концентрации TXA_2 , обладающего вазоконстрикторным действием [300].

Нейропептид Y увеличивает частоту осцилляций пейсмекерных клеток мезентериальных лимфатических сосудов морской свинки [246].

Рекомбинантные интерлейкины: интерлейкин-1 («Беталейкин») в концентрации $1 \cdot 10^{-11}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ г/л и интерлейкин-2 («Ронколейкин») 10^{-10} – 10^{-3} г/л влияют на моторику изолированных лимфангионов грудного протока белой крысы в изометрических условиях неоднозначно: в низких концентрациях (10^{-11} – 10^{-10} г/л) уменьшают частоту и амплитуду фазных сокращений на 50-70%, в средних концентрациях (10^{-9} – 10^{-8} г/л) вызывают двухфазные реакции (вначале наблюдается торможение сократительной активности, а затем стимуляция). Препараты в высоких концентрациях (10^{-7} – 10^{-5} г/л) увеличивают в два раза частоту и амплитуду фазных сокращений лимфангионов. Одним из механизмов действия интерлейкинов является активация тучных клеток с выделением гистамина, гепарина и серотонина [24].

Тромбоцит-активирующий ростовой фактор (PDGF-BB) в низких концентрациях индуцирует эндотелийзависимую NO-опосредованную релаксацию гладких мышц подвздошных лимфатических сосудов мыши. В более высоких концентрациях PDGF-BB вызывает опосредованную PDGF β рецепторами тоническую констрикцию, причинами которой являются увеличение проницаемости наружной мембраны для ионов Ca^{2+} и выход кальция из внутриклеточных депо [238].

1.4.3.3. Влияние гистамина на сократительную активность лимфатического сосуда

Среди гуморальных факторов весомым влиянием на моторику мезентериальных лимфатических сосудов обладает гистамин [61, 202].

Гистамин участвует в регуляции огромного количества процессов в организме в нормальных условиях: он является нейромедиатором в ЦНС, участвует в регуляции процесса пищеварения, аллергических реакциях, воспалительных реакциях, регуляции сосудистого тонуса, а также вносит значительный вклад в реализацию иммунного ответа и развитие аллергических реакций [32, 252, 261]. Основным депо гистамина в организме являются гранулы тучных клеток (или тканевых базофилов), собственно базофилов и эозинофилов [237]. Тучные клетки локализуются в рыхлой соединительной ткани всех органов, в том числе и желудочно-кишечном тракте, особенно много их обнаруживают по ходу кровеносных сосудов и в лимфатических узлах. Еще один важный источник гистамина – энтерохромаффинные клетки желудка [32, 261].

Действие гистамина на лимфатические сосуды освещалось в литературе не однократно, однако ряд феноменов остался неизученным. Особенно важной представляется роль гистамина в регуляции сократительной активности мезентериальных лимфатических сосудов, поскольку базофилы и тучные клетки находятся в лимфатических узлах пищеварительной системы в большом количестве [109, 202, 261].

Установлено, что гистамин модулирует дренажную функцию лимфатической системы различными путями. Одним из механизмов стимуляции пропульсии под действием гистамина является усиление лимфообразования путем увеличения проницаемости капилляров и повышения содержания протеинов в интерстициальном пространстве и, впоследствии, в лимфе, что вызывает увеличение количества лимфы и, в результате – параметров сократительной активности лимфатических сосудов [164, 177]. Механизм усиления лимфообразования гистамином исследователи связывают с увеличением проницаемости мембран эндотелиальных клеток для ионов Ca^{2+} , что приводит к их констрикции и повышению проницаемости стенки сосуда [213, 214].

Гистамин *in vivo* стимулировал моторику в лимфатических сосудах передней лапы наркотизированной собаки и мезентериальных лимфатических

сосудах наркотизированной крысы [164, 214]. В изолированных гладкомышечных препаратах под действием гистамина наблюдались разнонаправленные эффекты: стимуляция сократительной активности лимфангионов мезентериальных морской свинки и трахеобронхиальных лимфатических сосудов свиньи, стимуляция и ингибирование фазной активности мезентериальных лимфатических сосудов быка [44, 152, 154, 287].

Рецепторный аппарат к гистамину находится на различных элементах стенки лимфатического сосуда – миоцитах и эндотелиоцитах [237, 248, 273].

Эффект гистамина на биологический объект зависит от активируемого типа рецепторов. Фармакологи выделяют 4 типа гистаминовых рецепторов. Все они являются G-протеин ассоциированными [106, 146].

Действия гистамина на лимфатические сосуды осуществляется через на специфические рецепторы H_1 , H_2 и H_3 типов. Лиганд-рецепторное взаимодействие гистамина с H_1 и H_3 типами рецепторов преимущественно стимулирует сократительную активность, тогда как активация H_2 рецепторов приводит к расслаблению гладких мышц сосудов, воздухоносных путей и органов желудочно-кишечного тракта [200].

H_3 тип рецепторов к гистамину выявлен в мембране нейронов центральной и периферической нервной системы. Возможному участию H_3 типа рецепторов в механизме действия гистамина на мезентериальные лимфатические сосудов посвящены единичные работы [154].

H_4 тип гистаминовых рецепторов присутствует только в мембранах иммунокомпетентных клеток и органов иммунной системы, где он опосредует хемотаксис [187, 271, 289].

H_1 и H_2 -гистаминовые рецепторы опосредуют реакции лимфангионов трахеобронхиальных сосудов свиньи, брыжеечных лимфатических сосудов морской свинки, брыжеечных лимфатических сосудов быка и крысы [61, 154, 172, 248, 287].

Однако молекулярная фармакология механизмов влияния гистамина на лимфатические сосуды раскрыта не полностью.

Роль эндотелия в реакциях лимфатических сосудов на действие гистамина полностью не ясна. Известно, что благодаря межклеточным контактам эндотелиоциты влияют на сократительную активность миоцитов посредством выделения различных факторов [256, 291]. Подобный механизм действия для гистамина был выявлен ранее в работе R.F. Furchgott – активация H_1 типа рецепторов на эндотелиальных клетках вызывала усиление фазной активности лимфатических сосудов [147]. Механизм влияния гистамина на сократительную активность лимфатических сосудов посредством активации эндотелиальных структур в работе не исследовался. Вместе с тем в кровеносных сосудах (изолированной базилярной артерии куры) эндотелийзависимые реакции на гистамин осуществлялись путем изменения синтеза такого регулятора сократительной активности как NO, но не простагландинов [178]. При этом известно, что под влиянием гистамина происходит изменение синтеза эндотелиоцитами простагландинов [176]. Данный факт требует дальнейшего изучения возможной роли простагландинов в механизме действия гистамина на мезентериальные лимфатические сосуды.

В культуре эндотелиальных клеток человека под действием гистамина наблюдалась секреция некоторых цитокинов: IL-8, IL-6, MCP-1 и GRO- α [90].

Учитывая, что гистамин оказывает стимулирующее влияние на лимфатические сосуды некоторых объектов исследования (например, мезентериальные лимфатические сосуды крысы), представляется целесообразным исследование участия различных источников кальция в механизме действия вещества [205, 208]. Подобного рода исследования для лимфатических сосудов не проводились, но в литературе присутствуют работы, свидетельствующие об изменении концентрации внутриклеточного кальция в эндотелиоцитах и миоцитах под действием гистамина [105, 106].

Рост внутриклеточного Ca^{2+} в эндотелиоцитах активирует ключевые сигнальные пути посредством реорганизации цитоскелета – через активацию киназы легких цепей миозина и рассоединение VE-кадгерина с участками его пассивной адгезии. Последующая активация Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы C

изоформы PKC α играет решающую роль в иницировании сокращения клеток эндотелия, а за ними и миоцитов [189]. Подобная реакция достигается за счет активации IP₃-рецепторов [110, 124]. Применение ингибитора митохондриального Na⁺/Ca²⁺ обменника CGP37157 (20 мкМ) изменяет мембранный потенциал эндотелиальных клеток EA.hy 926 и уменьшает эндотелийзависимую дилатацию аорты крысы. Механизм действия CGP37157 связан с подавлением гиперполяризации, вызванной ацетилхолином и гистамином и развитием деполяризации мембран путем повышения концентрации ионов кальция, что свидетельствует об участии Ca²⁺ в механизме действия гистамина на сосуды [105].

Установлено, что гистамин (1-100 мкМ) вызывает деполяризацию миоцитов средней мозговой артерии кролика, что приводит к дозозависимому сокращению сосуда. Блокатор кальциевых каналов L-типа нифедипин вызывает уменьшение вызванного гистамином сокращения на 80%, при этом не оказывает влияния на деполяризацию. Ингибирование неселективных каналов для Ca²⁺ с использованием Co²⁺ (100-200 мкг) уменьшает гистамин-индуцированную деполяризацию и приводит к расслаблению артерии, на фоне незначительного изменения индуцированных Ca²⁺ сокращений. В присутствии Co²⁺ в условиях низкой концентрации Na⁺ действие гистамина приводило к деполяризации, но сокращения были менее выраженными. Полученные результаты свидетельствуют об участии в реализации эффекта гистамина как потенциалзависимых Ca²⁺ каналов, так и других его источников [161].

Таким образом, механизм влияния гистамина на лимфатические сосуды остается выясненным не до конца.

Резюме: исследование рецепторов, опосредующих реакции лимфатических сосудов на действие гистамина, проведено не достаточно полно, осталась до сих пор не до конца выясненной роль эндотелиальных факторов в механизме действия гистамина. Исследований роли источников кальция, которые активирует гистамин для осуществления констрикторного влияния на лимфатические сосуды, к настоящему времени не проводилось.

1.4.3.4. Влияние серотонина на сократительную активность лимфатического сосуда

Механизм действия серотонина (5-НТ) на сократительную активность лимфатических сосудов также представляется изученным не до конца.

Физиологические функции серотонина в организме человека чрезвычайно многообразны: он является нейромедиатором в ЦНС, участвует в процессе свертывания крови, аллергических реакциях, воспалительных реакциях, регуляции сосудистого тонуса. Рецепторы к серотонину обнаружены в центральной и периферической нервной системе, на мембранах тромбоцитов, в стенке ЖКТ, на различных типах сосудов [70]. Проведенные в последние 10-15 лет исследования в области фармакологии выявили полиморфизм специфических рецепторов к серотонину, который определяет его многофункциональность в организме [70, 171]. На данный момент фармакологами идентифицировано 7 типов рецепторов из 5-НТ₁, 5-НТ₂, 5-НТ₄, 5-НТ₅, 5-НТ₆ и 5-НТ₇ являются G-протеин ассоциированными, а 5-НТ₃ рецепторы – связаны с ионными каналами [2, 155]. Кроме того показана способность серотонина взаимодействовать с адренорецепторами [131].

Основным местом синтеза серотонина являются энтерохромаффинные клетки ЖКТ, которые синтезируют около 95% 5-НТ в организме [117, 122]. В кровеносном русле серотонин находится в плотных гранулах тромбоцитов, которые являются одним из наиболее значимых депо серотонина [162, 239, 278].

Серотонин, как и гистамин, регулирует лимфоток посредством увеличения лимфообразования [47, 48] и путем непосредственного влияния на сократительную активность лимфатических сосудов [131, 152, 270]. Однако механизм влияния серотонина на лимфатические сосуды раскрыт далеко не полностью.

Регулирующее сократительную активность лимфангионов влияние 5-НТ показано *in vivo* в лимфатических сосудах наркотизированной собаки и морской свинки и в изолированных гладкомышечных препаратах – грудном протоке

собаки, трахеобронхиальных лимфатических сосудах свиньи и мезентериальных лимфатических сосудах быка, овцы и крысы [61, 44, 117, 131, 132, 152, 172, 211, 270].

Стимулирующее лимфангионы влияние серотонина опосредовано действием на 5-HT₂ рецепторы. Подобные реакции зарегистрированы *in vivo* в пренодальных лимфатических сосудах передней лапы наркотизированной собаки (имела место так же активация α -адренорецепторов) [131] и изолированных брыжеечных лимфатических сосудах овцы (в условиях блокады 5-HT₄) [211].

Помимо стимулирующих отмечены также и ингибирующие реакции, вызванные действием серотонина на 5-HT₄ и 5-HT₇ типы рецепторов. Они наблюдались в изолированных препаратах брыжеечных лимфатических сосудов овцы [211] и брыжеечных лимфатических сосудах морской свинки [117].

В большинстве работ эффекты 5-HT позиционировались как реакция только гладкомышечных клеток на действие серотонина, в то время как влияние на лимфатический сосуд может быть связано с изменением синтеза регуляторных факторов эндотелиоцитами. Ингибирующее влияние серотонина, осуществляющееся посредством 5-HT₄ и 5-HT₇, рецепторов свидетельствует о возможной роли эндотелиальных структур в реакциях лимфатических сосудов на действие серотонина [117, 211]. В частности 5-HT₇ рецепторов локализуется на эндотелиальных клетках мезентериальных лимфатических сосудов морской свинки [117].

Среди возможных эндотелийзависимых механизмов действия 5-HT исследователями показаны только NO-зависимые реакции лимфатических сосудов и узлов на действие серотонина [117, 222]. Другие возможные механизмы, в частности простагландиновый, не исследовались.

Выраженное констрикторное влияние серотонина, полученное, в частности в лимфатических сосудах крысы [61], создает предпосылки для изучения источников поступления ионов Ca²⁺ в цитозоль [137, 144, 190]. Систематических исследований, рассматривающих данный аспект механизма, ранее не проводилось.

Вызывает определенный интерес тот факт, что в другом гладкомышечном объекте Ca^{2+} -зависимый механизм имеет место: изолированные яремные вены кролика реагируют на 5-НТ повышением концентрации внутриклеточного кальция вследствие поступления иона из интерстициального пространства через потенциалзависимые каналы L-типа. Реакция прекращается при блокировании 5-НТ₂ рецепторов [247].

Резюме: с учетом того, что с фармакологической точки зрения рецепторы к серотонину характеризуются выраженным полиморфизмом, представляется актуальным дальнейшее изучение механизма действия 5-НТ на лимфангионы; роль эндотелия представляется изученной не полностью; систематических исследований источников ионов кальция, активируемых серотонином в лимфатических сосудах не проводилось.

1.5. Сократительная активность брыжеечных лимфатических сосудов в условиях перитонита

Действие различных повреждающих факторов изменяет функциональное состояние лимфатических сосудов, что отражается на их сократительной активности [57, 237, 286]. Одной из причин изменения параметров сократительной активности лимфатических сосудов может являться перитонит – воспаление брюшины [34, 71].

В динамике перитонита биогенные амины – гистамин и серотонин – играют ключевую роль [45]. На основании клинических исследований, установлено, что тяжесть перитонита прямо коррелирует со степенью выраженности гистаминемии [45]. Экспериментально доказано, что действие вируса инфекционного перитонита кошки вызывает повышение содержания серотонина в интерстициальном пространстве посредством активации тромбоцитов на 100% по отношению к исходной концентрации вещества [240].

Повышение концентрации гистамина в интерстициальном пространстве и биологических жидкостях происходит при дегрануляции тучных клеток в ответ

на действие интерлейкинов [237, 261]. Концентрация серотонина повышается в процессе микротромбообразования [24, 239, 254].

Увеличение концентрации биологически активных веществ (медиаторов воспаления) при перитоните вызывает развитие ряда обменных нарушений на микроциркуляторном уровне, в том числе и гипергидратацию интерстициального пространства [88, 185, 216]. Причиной увеличения количества воды в межклеточной жидкости является повышение проницаемости капилляров, вызванное действием гистамина и серотонина [45, 135].

Сократительная активность лимфангионов в условиях перитонита меняется в результате действия многих факторов: повышения интенсивности лимфообразования, влияния медиаторов воспаления, изменения морфологического состояния лимфатических сосудов и т. д. [170, 282]. Также при воспалительном процессе отмечена модификация синтетических процессов в эндотелиоцитах, что сопровождается изменением характера выделяемых регуляторных факторов [74, 242]. Эндотелиальные клетки выделяют преимущественно вазоконстрикторы [78, 291].

В цитируемых ранее работах была показана высокая чувствительность интактных лимфатических сосудов к гистамину и серотонину, но состояние реактивности лимфангионов к биогенным аминам в условиях перитонита не исследовалось. В то время как для поиска путей коррекции гидратации интерстициального пространства представляется немаловажным изучение состояния реактивности лимфатических сосудов к вазоактивным веществам [27, 282].

Чувствительность лимфангионов к действию гистамина и серотонина в условиях перитонита не изучалась, но известно, что при гипоксии, которая имеет место при перитоните, способность лимфатических сосудов реагировать на биологически активные вещества меняется [53]. Изменение реактивности к катехоламинам в условиях гипоксии характеризуется половым диморфизмом: лимфатические сосуды самцов крысы реагируют на действие норадrenalина в вышеописанных условиях усилением моторики, а в лимфатических сосудах

беременных самок крысы наблюдается только увеличение длительности сокращений без изменения частоты, амплитуды и тонуса [138].

Консервативная терапия перитонита включает использование антибактериальных препаратов, которые нередко вводятся эндолимфатически и лимфотропно, что подразумевает совместное влияние на сократительную активность из интерстициального пространства и просвета сосуда гистамина, серотонина и антибактериальных препаратов [11, 12, 42, 86]. Действие антибактериальных препаратов на эффекты гистамина и серотонина не тестировалось, в то время как состояние реактивности лимфатических сосудов к биогенным аминам в условиях антибактериальной терапии может в значительной мере отражаться на пропульсии лимфы.

Для эндолимфатического введения используют различные группы антибактериальных препаратов: аминогликозиды (гентамицин), препараты пенициллинового ряда и цефалоспорины (клафоран или цефотаксим) [6, 76].

В лечении перитонита важным для клиницистов представляется использование таких антибактериальных препаратов, которые помимо бактерицидного эффекта обладали бы стимулирующим сократительную активность лимфатических сосудов действием для обеспечения насыщения лимфатического русла [82, 86].

Антибактериальные препараты оказывают в основном ингибирующее действие на моторику интактных лимфангионов.

Бензилпенициллин натриевая соль (1 млн ЕД), гентамицин сульфат (8 г/л) и клафоран (2,5 г/л) уменьшают фазную активность в изолированных сегментах лимфатических сосудов быка в изометрических условиях. Линкомицин в терапевтических концентрациях выражено ингибирует моторику изолированных лимфангионов брыжейки быка [3].

Линкомицин в концентрации 5 нг/кг, обладает умеренным ингибирующим моторику лимфангионов нижней конечности человека действием [72]. Ингибирующее моторику лимфатических сосудов в терапевтических концентрациях влияние линкомицина послужило основанием для применения

данного препарата в комплексном лечении рожистого воспаления нижних конечностей, так как снижение параметров фазной активности лимфангионов приводит к более длительной экспозиции антибактериального препарата в очаге воспаления [83].

Ампициллин/сульбактам во всем диапазоне терапевтических концентраций снижает пропульсионную способность в изолированных мезентериальных лимфатических сосудах крысы [33].

Исследований действия антибактериальных препаратов на моторную функцию лимфатических сосудов в условиях перитонита не проводилось, но представляется целесообразным в рамках вопроса выбора антибиотика [80]. Реакции лимфангионов при перитоните на действие антибиотика могут отличаться от полученных на интактных объектах, что делает изучение их действия на лимфангионы при перитоните актуальным.

Действие гистамина и серотонина на сократительную активность лимфатических сосудов в условиях влияния антибактериальных препаратов не исследовалось, в то время как в очаге перитонита они модулируют на сократительную активность лимфатических сосудов совместно.

Резюме:

1. Гистамин и серотонин модулируют сократительную активность лимфатических сосудов.
2. Механизмы действия гистамина и серотонина гистамина и серотонина на лимфатические сосуды выяснены не до конца.
3. Не изучены особенности моторной функции лимфатических сосудов в условиях перитонита и особенности реактивности к биологически активным веществам.
4. Совместное действие гистамина и серотонина и антибактериальных препаратов на сократительную активность лимфатических сосудов в условиях перитонита является не изученным.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Выбор объекта исследования

В качестве объекта исследования использовался сегмент средней части изолированного кишечного ствола крысы [61, 170]. Основанием для выбора данного объекта экспериментов послужило то, что кишечный ствол морфологи относят к сосудам мышечного типа [16, 23], для которых моторная или насосная функция преобладает над емкостной [61, 295]. При этом наиболее высокое содержание миоцитов отмечено в средней части сосуда [15, 100].

Параметры сократительной активности мезентериальных лимфатических сосудов изучались ранее другими исследователями [61]. Механизмы миогенной, нервной, гуморальной и эндотелийзависимой регуляции сократительной функции гладкомышечных клеток лимфатических сосудов данного типа частично раскрыты [25, 61, 284].

Второй объект исследования – изолированный сегмент сосуда той же регионарной принадлежности, выделенный из брюшной полости после 24-часового экспериментального калового перитонита.

2.2. Моделирование перитонита

Для исследования состояния сократительной активности и возможного изменения реактивности лимфатических сосудов в условиях перитонита по сравнению с таковой у интактных объектов использовалась методика моделирования калового перитонита. Наркотизированным крысам-самцам массой 200-250 г в брюшную полость пункционным методом осуществлялось введение 20% каловой взвеси в дозе 1 мл на 100 г массы животного. Данная модель отличается простотой выполнения, сходностью клинических, лабораторных и патоморфологических изменений у всех экспериментальных животных, что позволяет адекватно воспроизводить в условиях опыта близкую к

клинике патологическую ситуацию, которая не требует гистологического подтверждения [85]. Через 24 часа после операции производилась эвтаназия и вскрытие.

2.3. Приготовление препаратов для исследования

Мезентериальные лимфатические сосуды извлекались из брюшной полости эвтаназированных беспородных белых крыс (200-250 г). До исследований животные содержались в виварии на стандартной диете со свободным доступом к воде. Эвтаназию проводили посредством ингаляции газовой смесью, состоящей из 70% CO₂ и 30% O₂. Время экспозиции составило в среднем 3-5 мин. Подобный способ эвтаназии отвечает «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденным приказом МЗ СССР №755 от 12.08.77; принципам конвенцией по защите животных, используемых в эксперименте и других научных целях (г. Страсбург, Франция, 1986); директиве совета 86/609/ЕЕС от 24.11.86 по согласованию законов, правил и административных распоряжений стран-участниц, в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и других научных целях.

После взвешивания животного в ванночке, заполненной воском, выполнялось вскрытие брюшной полости путем срединной лапаротомии. Извлечение объекта исследования занимало не более 15-20 мин. Окончательная очистка объекта от окружающих тканей проводилась в чашке Петри в растворе Кребса, предварительно сатурированном газовой смесью (95% O₂ + 5% CO₂), с применением микроскопа МБС-Ф-ЛОМО под 12-ти кратным увеличением. В экспериментах в состав препарата входили проксимальный, дистальный клапаны и мышечная манжетка исследуемого лимфангиона (рис. 2.1).

Готовый препарат лимфатического сосуда канюлировался по ходу лимфотока в рабочей камере миографической установки (Pressure Myograph System 110P) (рис. 2.2) с проверкой факта попадания в сосуд для последующей

перфузии предварительно сатурированной газовой смесью (95% O₂ + 5% CO₂) раствором Кребса [298].

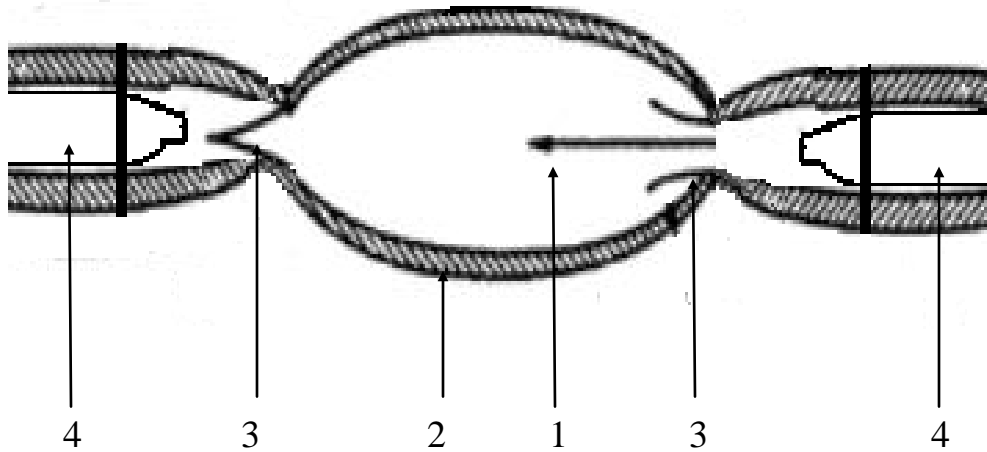


Рисунок 2.1 Схематическое изображение препарата лимфатического сосуда, используемого для исследований

Обозначения:

1. Направление тока перфузата.
2. Мышечная манжетка
3. Створки клапанов.
4. Канюли

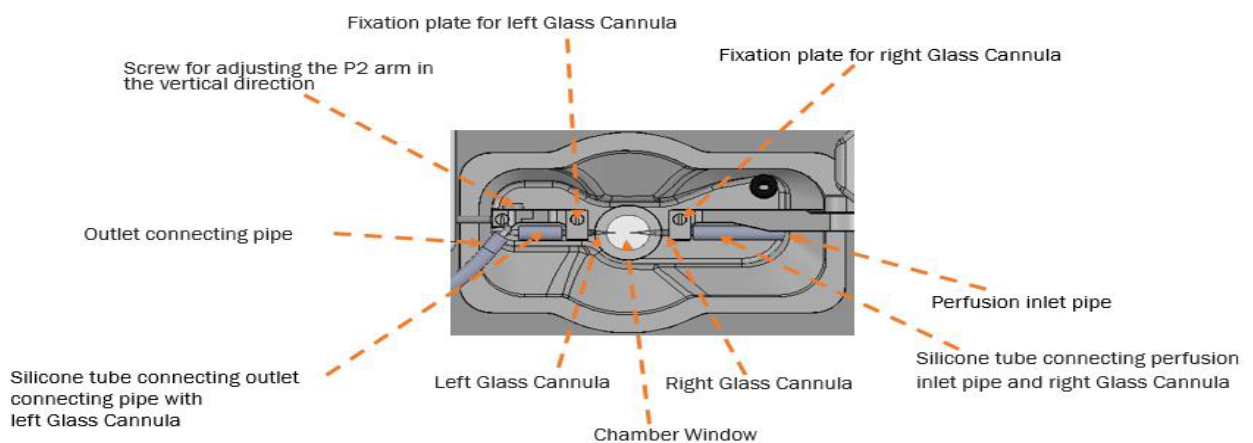


Рисунок 2.2 Рабочая камера Pressure Myograph System 110P

Для изучения эндотелийзависимых реакций у части препаратов выполнялось удаление эндотелия путем пропускания воздушной струи через просвет сосуда согласно методике, описанной Fox J.L. (2002) [154]. Эффективность удаления эндотелия определялась отсутствием реакции лимфангионов на действие ацетилхолина, рецепторы к которому есть только на эндотелиоцитах.

Перед использованием объектов при перитоните предварительно проводили их промывание в растворе Кребса в течение 10-15 мин.

2.4. Солевые растворы: состав, температура, эндолимфатическое давление, рН

В качестве рабочего раствора в экспериментах использовали раствор Кребса, следующего состава (в мМ): NaCl – 118,99; KCl – 4,69; NaHCO₃ – 25,0; MgSO₄·7H₂O – 1,17; KH₂PO₄ – 1,18; CaCl₂·2 H₂O – 2,50; глюкоза – 5,5; EDTA – 0,03. Для приготовления раствора использовались химически чистые соли, EDTA и глюкоза 20%. Непосредственно перед экспериментом для стабилизации рН свежеприготовленный раствор Кребса в течение 30 мин сатурали газовой смесью, состоящей из 95% кислорода и 5% углекислого газа. В дальнейшем каждая новая порция раствора Кребса перед использованием также подвергалась сатурации. Поддержание постоянного газового состава смеси обеспечивало стабильный уровень рН в пределах 7,36–7,40. Контроль рН раствора осуществлялся до начала эксперимента и в дальнейшем с интервалом 30 мин с помощью иономера И-120.

Все эксперименты проводились с использованием миографической установки Pressure Myograph System 110P (Danish Myo Technology), которая измеряет продольное натяжение в сосудах в изометрических условиях, а также дает возможность изучать влияние биологически активных веществ и фармакологических препаратов в физиологических условиях *in vitro*. В Pressure Myograph System 110P поддерживается постоянный уровень перфузии. Система

позволяет задавать давление перфузата на входе и выходе из сосуда, которое в экспериментах составляло 6,5 мм Н₂О, что соответствует гидродинамическим условиям в данном участке лимфотока и позволяет получить оптимальные параметры сократительной активности [267].

Температура в рабочей камере контролировалась встроенным термодатчиком и составила $+37,0 \pm 0,2$ С в течение всего эксперимента.

Биологически активные и тестовые вещества растворяли в растворе Кребса за 10–15 мин до начала воздействия. Растворение и тщательное перемешивание осуществлялось с использованием магнитной мешалки ММ–5.

Нерастворимое в воде вещество – индометацин предварительно растворяли в 96% этаноле. Спиртовой раствор индометацина добавляли в раствор Кребса для достижения его концентрации 10^{-6} М, концентрация этанола при этом составляла 0,2 мл/л. Предварительное воздействие на лимфатические сосуды этанолом в вышеуказанной концентрации не выявило статистически значимых изменений параметров сократительной активности миоцитов [156].

2.5. Регистрация сократительной активности лимфангионов

Исследовали уровень тонического напряжения, частоту и амплитуду спонтанных и вызванных фазных сокращений интактных лимфатических сосудов и лимфангионов при перитоните в условиях перфузии. Регистрация параметров сократительной активности лимфатических сосудов проводилась с помощью встроенного тензодатчика. Запись полученных данных осуществлялась в прилагаемой программе к Pressure Myograph System 110P.

Калибровка тензодатчика, работающего в горизонтальном положении, производилась с помощью специального оборудования и гирек, прилагаемых к Pressure Myograph System 110P до и после проведения экспериментов.

2.6. Фармакологические воздействия на клеточную мембрану и внутриклеточные сигнальные системы

В исследованиях применялись следующие препараты:

1. Гистамин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся в концентрациях 10^{-9} – 10^{-4} М.
2. Дифенгидрамин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся для блокады H_1 гистаминовых рецепторов в концентрации 10^{-6} М.
3. Циметидин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся для блокады H_2 гистаминовых рецепторов в концентрации 10^{-6} М.
4. L-NAME фирмы "Calbiochem" применялся для блокады e-NOS в концентрации 10^{-5} М.
5. Ацетилхолин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся в концентрации $2 \cdot 10^{-5}$ М для проверки эффективности удаления эндотелия.
6. Нитропруссид натрия фирмы "Sigma-Aldrich" применялся в концентрации 10^{-6} М как донор NO.
7. Серотонин фирмы "Sigma-Aldrich", применялся в концентрациях 10^{-8} – 10^{-4} М.
8. Кетансерин фирмы "Sigma-Aldrich", применялся для блокады $5HT_2$ серотониновых рецепторов в концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ М.
9. Йохимбин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся для блокады α_2 -адренорецепторов в концентрации $3 \cdot 10^{-6}$ М.
10. Нифедипин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся для блокады кальциевых каналов L-типа в концентрации $3 \cdot 10^{-6}$ М.
11. Гепарин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся для блокады IP_3 -активируемых кальциевых каналов в концентрации 5 ЕД/мл.
12. Рианодин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся для блокады рианодин-активируемых кальциевых каналов в концентрации $5 \cdot 10^{-6}$ М.
13. Индометацин фирмы "Sigma-Aldrich" применялся для блокады ЦОГ в концентрации 10^{-6} М.

14. Этанол 96% отечественного производства применялся для растворения индометацина.

15. Амикацин фирмы ОАО «Синтез» применялся в концентрациях 0,0015, 0,005, 0,015, 0,05, 25 и 50 мг/мл.

16. Цефтриаксон фирмы ООО компания «ДЕКО» применялся в концентрациях 0,0024, 0,008, 0,024, 50, 100 и 500 мг/мл.

Растворы фармакологических препаратов готовились путем их растворения в растворе Кребса и, в последующем, разбавлялись им в необходимом соотношении непосредственно перед применением в эксперименте до достижения рабочей концентрации.

2.6.1. Амикацин

Амикацин – полусинтетический бактерицидный антибиотик группы аминогликозидов.

Амикацин применяется в комплексном медикаментозном лечении перитонита, как препарат, который адекватно перекрывает диапазон его потенциальных возбудителей [5, 42, 77].

Низкие концентрации амикацина соответствовали 1/10 терапевтической концентрации в сыворотке крови (0,0015 мг/мл), минимальной подавляющей концентрации в тканях (МПК) (0,005 мг/мл), терапевтической концентрации в сыворотке крови (0,015 мг/мл) и 10 МПК (0,05 мг/мл). Высокие концентрации были рассчитаны исходя из методик лимфотропного применения амикацина (25 и 50 мг/мл – при введении в дубликатуры брюшины) [5, 241].

2.6.2. Цефтриаксон

Цефтриаксон – цефалоспориновый антибиотик III поколения широкого спектра действия. Цефтриаксон относится к группе антибактериальных препаратов резерва для лечения перитонита [11, 77].

Низкие концентрации цефтриаксона соответствовали 1/10 терапевтической концентрации в сыворотке крови (0,0024 мг/мл), минимальной подавляющей концентрации в тканях (МПК) (0,008 мг/мл), терапевтической концентрации в сыворотке крови (0,024 мг/мл). Высокие концентрации были рассчитаны исходя из методики лимфотропного применения цефтриаксона (50 и 100 мг/мл – при введении в дубликатуры брюшины, 500 мг/мл – при лимфотропном введении в нижнюю конечность) [4, 5].

2.7. Характеристика экспериментального материала, объем исследований и статистическая обработка результатов

Работа выполнена на следующем экспериментальном материале:

- 1) интактные лимфангионы брыжеечных лимфатических сосудов крысы длиной 5-7 мм – 117;
- 2) лимфатические сосуды при перитоните – 70.

Статистически обработано 327 измерений параметров сократительной активности лимфатических сосудов. Статистическую обработку материалов проводили с использованием методов описательной и аналитической статистики в программе GraphPad Prism 5.04. За критический уровень значимости принимали $p=0,05$. Для описания центральной тенденции использовали значение среднего арифметического, в качестве меры рассеяния данных применяли стандартное отклонение. Данные внутри группы сравнивали с помощью Т-критерия Вилкоксона. Для сравнения независимых выборок применяли U-критерий Манна-Уитни [75].

Глава 3. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГИСТАМИНА НА ИНТАКТНЫЕ ЛИМФАНГИОНЫ

3.1. Действие гистамина на спонтанную фазную сократительную функцию лимфатических сосудов

В данном разделе исследования проводились на интактных изолированных сегментах (лимфангионах) кишечного ствола белой крысы (n=10).

В спонтанно неактивных сосудах под действием гистамина (10^{-6} М) проявлялась фазная активность. В исследованиях использовались только лимфатические сосуды, обладающие спонтанной активностью. Через 20 минут от начала эксперимента в исследуемых лимфатических сосудах, как правило, устанавливались стабильные параметры спонтанной фазной активности и тонус. В среднем частота спонтанного ритма сокращений сегментов лимфатических сосудов в данной серии опытов составила – $14,1 \pm 2,6$ мин⁻¹, амплитуда – $235 \pm 12,4$ мкН.

После стабилизации параметров спонтанной активности на лимфангионы действовали гистамином в возрастающих концентрациях 10^{-10} – 10^{-4} М (рис. 3.1). Статистически значимые изменения параметров фазных сокращений лимфатического сосуда наблюдались на действие гистамина в концентрации 10^{-9} М: частота сокращений лимфангионов увеличивалась в среднем на 40,6%, прирост амплитуды в среднем составил 10,6% по отношению к исходным величинам (см. табл. 1 и 2). Увеличение концентрации гистамина до 10^{-8} и 10^{-7} М приводило к росту частоты сокращений в среднем на 36,9 и 23,6% соответственно по отношению к ее исходной величине. Статистически значимое увеличение амплитуды фазных сокращений интактных лимфангионов наблюдалось только в ответ на действие гистамина в концентрации 10^{-8} М (максимальное увеличение составило 12,8% по отношению к исходной величине). Гистамин в концентрации 10^{-7} М не вызывал статистически значимого изменения амплитуды фазных сокращений.

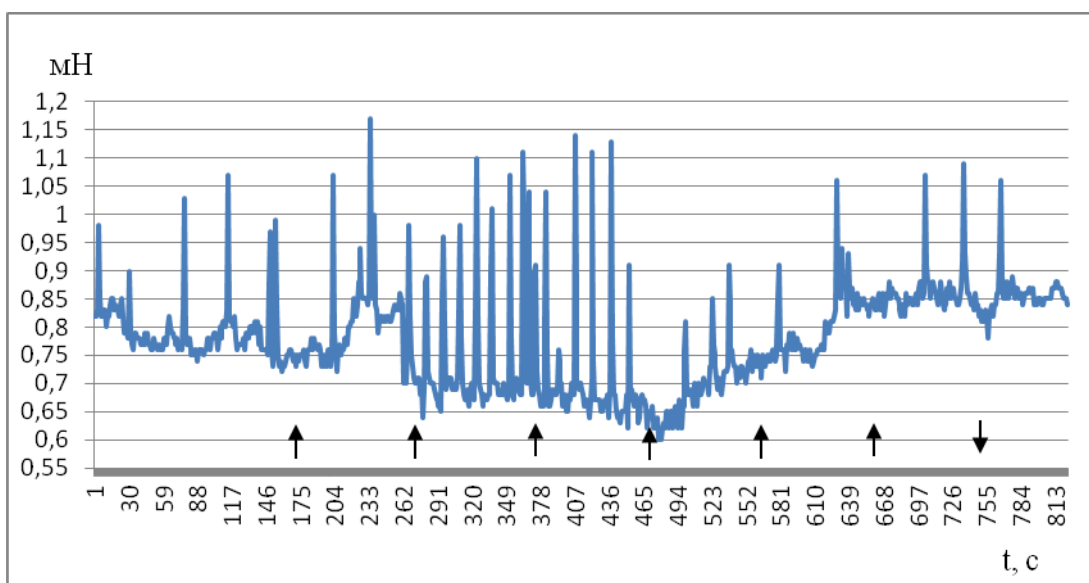


Рис. 3.1. Действие гистамина на сократительную активность интактных лимфатических сосудов.

Примечание. Стрелками вверх показаны моменты применения гистамина в концентрациях 10^{-9} – 10^{-4} М, стрелкой вниз – отмывание.

Таблица 1

Действие гистамина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов в условиях блокады H_1 и H_2 рецепторов

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г	14,1±2,1	20,6±1,8	19,4±2,01	17,3±1,4	10,5±1,1	8,6±1,2	6,1±1,8
Г+ДГ	14,5±2,1	15,5±2,3	15,5±2,5	14,2±1,9	10,5±1,1	9,2±1,1	6,7±1,7
Г+Ц	14,5±2,5	20,1±2,2	19,3±1,6	14,50±1,3	12,8±1,4	11,9±1,3	11,7±1,2

Примечание. Г – гистамин, ДГ – дифенгидрамин, Ц – циметидин.

Гистамин в высоких концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} М) вызывал уменьшение параметров фазной активности лимфатических сосудов: амплитуда одиночных сокращений снижалась в среднем на 10,6–55,8%, частота – на 25,5–56,8% по отношению к исходным величинам. Наблюдалось повышение тонуса на 0,1–0,25 мН.

Реакции лимфангионов на действие гистамина были обратимы – параметры сократительной активности восстанавливались через 15–20 мин после начала отмывания раствором Кребса.

Значения параметров фазной активности лимфангионов, полученные под действием гистамина в исследуемом диапазоне концентраций, в дальнейшем принимались в качестве контрольных величин.

Таблица 2

Действие гистамина на амплитуду (мкН) сократительной активности интактных лимфатических сосудов в условиях блокады H_1 и H_2 рецепторов

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г	235±1,1	260±5,1	265±8,04	235±3,9	210±3,6	195±1,04	105±4,6
Г+ДГ	230±2,02	235±6,2	225±6,8	210±3,95	210±2,4	190±4,6	120±3,8
Г+Ц	230±2,02	260±4,9	265±3,7	230±5,9	225±2,7	215±4,8	165±3,1

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 1.

3.2. Действие гистамина на изолированные интактные лимфатические сосуды в условиях применения блокаторов специфических рецепторов

С целью изучения механизмов наблюдаемого двухфазного влияния гистамина была проведена серия экспериментов с применением блокаторов специфических рецепторов H_1 , H_2 и агонистом H_3 рецепторов (n=16).

Для изучения возможного влияния на моторику лимфангионов блокатора H_1 гистаминовых рецепторов – дифенгидрамина – его действие исследовалось в диапазоне концентраций от 10^{-8} до 10^{-5} М в течение 15 мин. Дифенгидрамин в исследуемом диапазоне концентраций не вызвал статистически значимых изменений параметров сократительной активности лимфангионов. В исследованиях дифенгидрамин применяли в концентрации (10^{-6} М) [178].

В условиях применения дифенгидрамина влияние гистамина в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-8} М) на лимфатические сосуды было менее выраженным: положительный хронотропный эффект составил не более $6,8 \pm 1,2\%$ от исходной величины без достоверного изменения амплитуды (см. рис. 3.2 и 3.3, табл. 1 и 2). Статистически достоверных тонических реакций также получено не было.

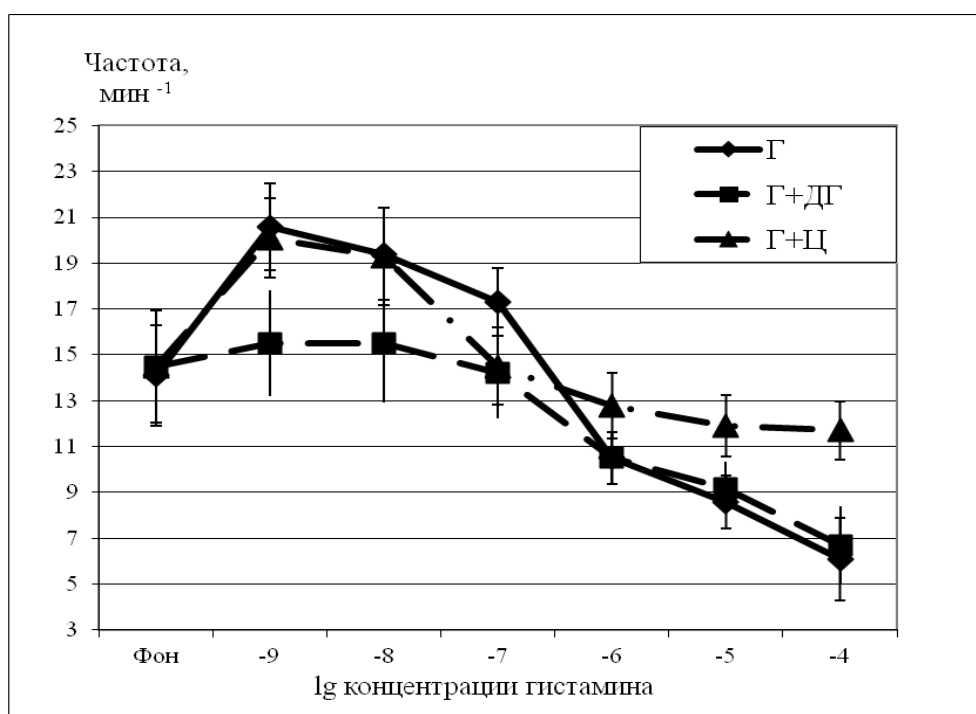


Рисунок 3.2 – Действие гистамина на частоту фазных сокращений интактных лимфангионов в условиях блокады специфических рецепторов.

Примечание: Г – гистамин, ДГ – дифенгидрамин, Ц – циметидин.

Действие гистамина в высоких концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} М) в условиях блокады H_1 гистаминовых рецепторов дифенгидраминам статистически значимо не отличалось от такового при отдельном применении гистамина.

Для исследования возможного влияния на моторику лимфангионов блокатора H_2 гистаминовых рецепторов – циметидина – его действие изучалось в диапазоне концентраций от 10^{-8} до 10^{-5} М в течение 15 мин. Циметидин в исследуемом диапазоне концентраций не вызвал статистически значимых изменений параметров сократительной активности лимфангионов. В исследованиях циметидин применяли в концентрации (10^{-6} М) [178].

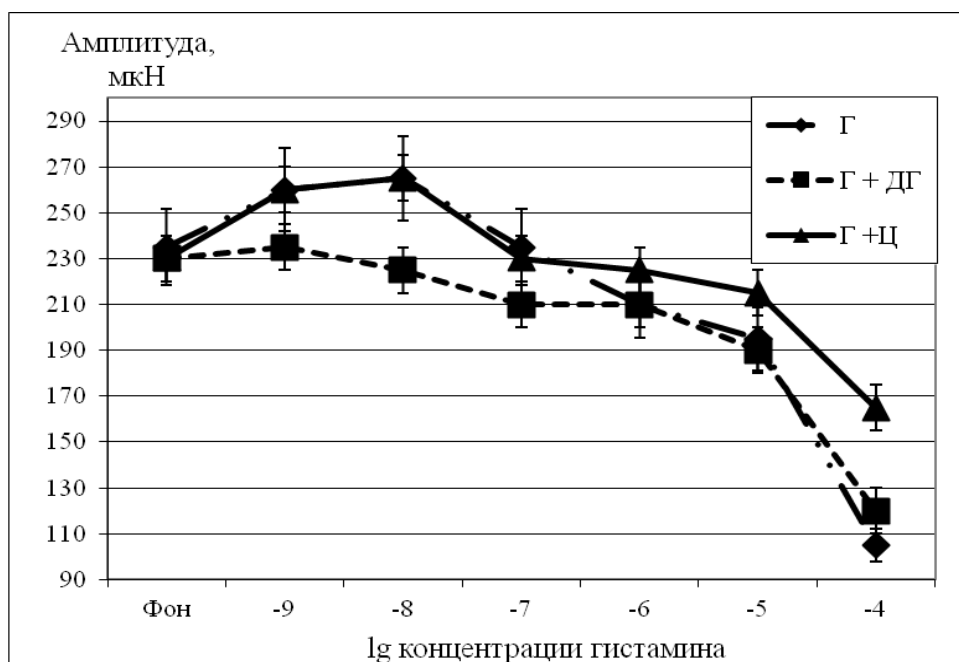


Рисунок 3.3. – Действие гистамина на амплитуду фазных сокращений интактных лимфангионов в условиях блокады специфических рецепторов.

Примечание. Обозначения те же, что и на рисунке 3.2.

Значимых различий в характере ответных реакций лимфангионов на действие гистамина в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-7} М) в условиях применения циметидина по сравнению с его отдельным использованием выявлено не было.

В условиях влияния циметидина эффект гистамина в высоких концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} М) был снижен: частота фазных сокращений снижалась на 9,3–17,1% от исходной величины (при отдельном применении гистамина – 25,6–56,7%). Значимое уменьшение амплитуды фазных сокращений лимфангионов в данных условиях – в среднем на 28,3% – было получено только в ответ на действие гистамина в концентрации 10^{-4} М, что также ниже по сравнению с эффектом отдельного применения гистамина.

Применение селективного агониста H_3 рецепторов R- α -метилгистамина (10^{-5} М) в течение 20 мин не приводило к значимым изменениям моторики лимфангионов кишечного ствола (n=4).

3.3. Влияние гистамина на деэндотелизированные лимфангионы и в условиях блокады синтеза NO

Наличие тонических реакций в лимфангионах на действие гистамина вызывает предположение о возможном участии эндотелийзависимых механизмов в развитии отмеченного эффекта [154].

С целью изучения эндотелийзависимого компонента реакции лимфатических сосудов на действие гистамина у части препаратов (n=10) была проведена деэндотелизация с применением методики, описанной ранее в главе 2.

Удаление эндотелия приводило к статистически значимому изменению параметров фазной активности лимфангионов: частота была выше по отношению к интактным в среднем на 30% и составила $20,14 \pm 0,65$ мин⁻¹. Амплитуда сократительной активности деэндотелизированных сосудов составила $239 \pm 7,33$ мкН, что статистически значимо не отличается от таковой в интактных лимфатических сосудах.

Сократительные реакции в деэндотелизированных лимфатических сосудах на действие гистамина в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-7} М) в 80% случаев не отличались от таковых в интактных сосудах (рис. 3.4 и 3.5, табл. 3 и 4).

Действие гистамина в более высоких концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} М) в деэндотелизированных лимфангионах отличалось от такового в интактных сосудах: частота фазной активности уменьшалась на 10,2–12,9% от исходных значений по сравнению с 25,56–56,7% при отдельном применении гистамина в указанных концентрациях ($p < 0,05$). Статистически значимых изменений амплитуды фазной активности по сравнению с исходным значением на действие гистамина в высоких концентрациях в сосудах без эндотелия получено не было.

В кровеносных сосудах эндотелийзависимые реакции на гистамин осуществляются путем изменения синтеза NO [178].

Для изучения роли NO в эффекте гистамина в лимфангионах был использован блокатор синтеза оксида азота – L-NAME.

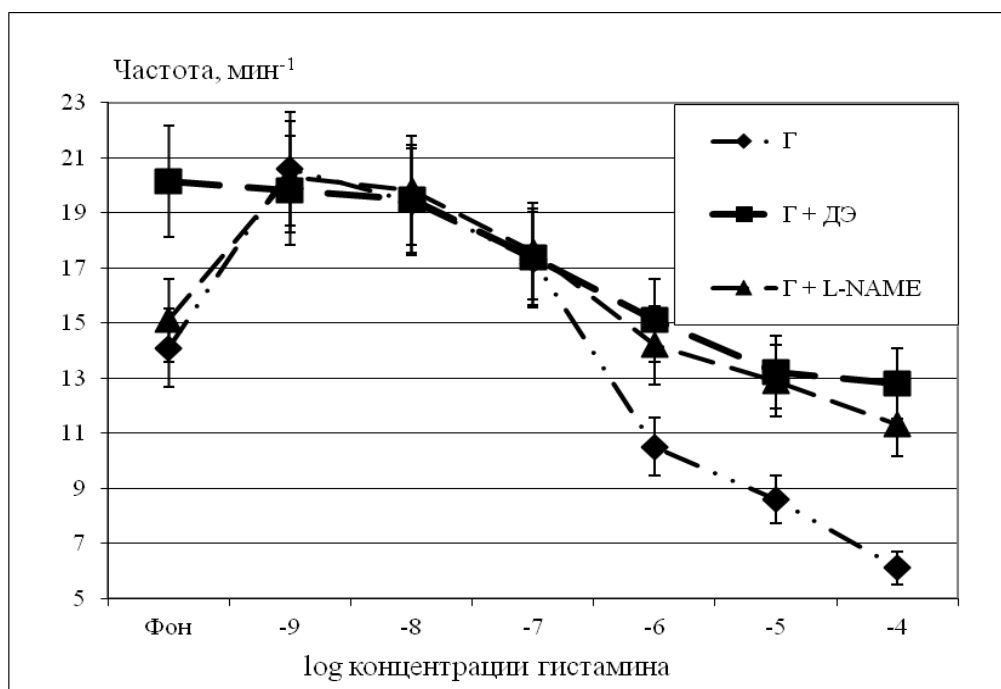


Рис. 3.4. – Действие гистамина на частоту фазных сокращений лимфангионов без эндотелия и на лимфатические сосуды в условиях блокады синтеза NO L-NAME.

Примечание. Г – гистамин, ДЭ – деэндотелизация.

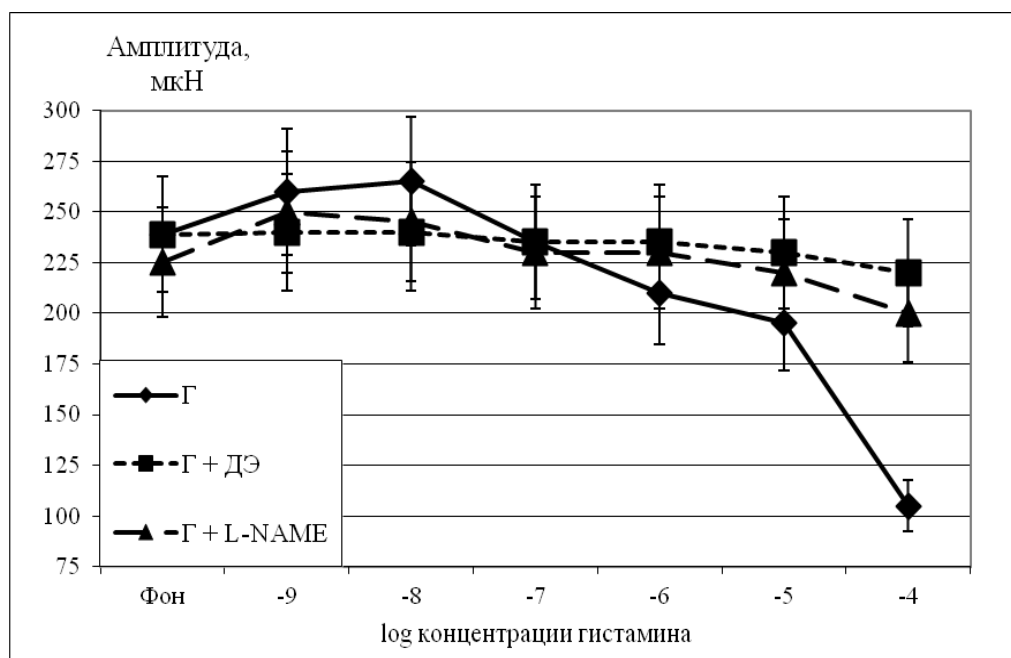


Рис. 3.5 – Действие гистамина на амплитуду фазных сокращений лимфангионов без эндотелия и на лимфатические сосуды в условиях блокады синтеза NO L-NAME.

Примечание. Обозначения те же, что и на рисунке 3.4.

Таблица 3

Действие гистамина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов в условиях удаления эндотелия и при применении L-NAME

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г	14,1±2,1	20,6±1,8	19,4±2,01	17,3±1,4	10,5±1,1	8,6±1,2	6,1±1,8
Г+ДЭ	20,14±3,2	19,8±2,7	19,5±2,8	17,4±3,8	15,1±2,4	13,2±1,5	12,8±1,6
Г+							
L-							
NAME	15,1±1,7	20,3±1,3	19,8±2,1	17,6±2,3	14,2±1,8	12,9±1,3	11,3±1,9

Примечания. Г – гистамин, ДЭ – деэндотелизация.

Таблица 4

Действие гистамина на амплитуду (μH) сократительной активности интактных лимфатических сосудов в условиях удаления эндотелия и при применении L-NAME

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г	235±1,1	260±5,1	265±8,04	235±3,9	210±3,6	195±1,0	105±4,6
Г+ДЭ	230±3,0	240±4,8	240±6,9	235±1,8	235±2,5	230±8,5	220±6,5
Г+							
L-							
NAME	225±10,3	250±14,0	245±8,9	230±7,9	230±12,7	220±12,6	200±13,0

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 3.

В экспериментах L-NAME применяли в концентрации 10^{-5} М [159].

Использование гистамина в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-7} М) на фоне действия ингибитора NOS L-NAME не вызывало статистически значимых

отличий в реакциях лимфатических сосудов от таковых при отдельном использовании (см. рис. 3.4 и 3.5, табл. 3 и 4).

Действие гистамина в высоких концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} М) в лимфатических сосудах на фоне L-NAME отличалось от такового при отдельном применении гистамина: частота фазных сокращений уменьшалась на 6,0–25,2% от исходного уровня по сравнению с 25,6–56,8% в контроле, повышение тонуса миоцитов в среднем было в 2 раза менее выраженным.

3.4. Влияние гистамина на лимфангионы в условиях блокады синтеза простагландинов

Действие гистамина на лимфатические сосуды может также осуществляться посредством изменения выделения простагландинов, подобный механизм влияния вещества выявлен в кровеносных сосудах [299]. Для изучения участия простагландинов в механизме действия гистамина в лимфатических сосудах был использован ингибитор циклооксигеназ (или простагландинсинтаз) – индометацин [264]. В экспериментах индометацин применяли в концентрации 10^{-5} М [159].

Действие гистамина в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-7} М) на фоне индометацина статистически значимо не отличалось от полученного в контроле отдельного влияния гистамина (рис. 3.6 и 3.7, табл. 5 и 6).

Эффект гистамина в высоких концентрациях в условиях применения индометацина отличался от полученного при отдельном применении вещества: частота фазных сокращений лимфангионов уменьшалась менее выражено – на 5,0–15,2% от исходного уровня по сравнению с 25,6–56,8% в контроле. Повышение тонуса миоцитов в этих условиях в среднем было в 1,5 раза менее выраженным, чем при отдельном применении гистамина. Только действие гистамина концентрации 10^{-4} М в условиях применения индометацина приводило к уменьшению амплитуды фазных сокращений лимфатических сосудов в

среднем на 34,3% по сравнению с фоновым, что ниже, чем при отдельном применении гистамина в указанной концентрации (55,6%).

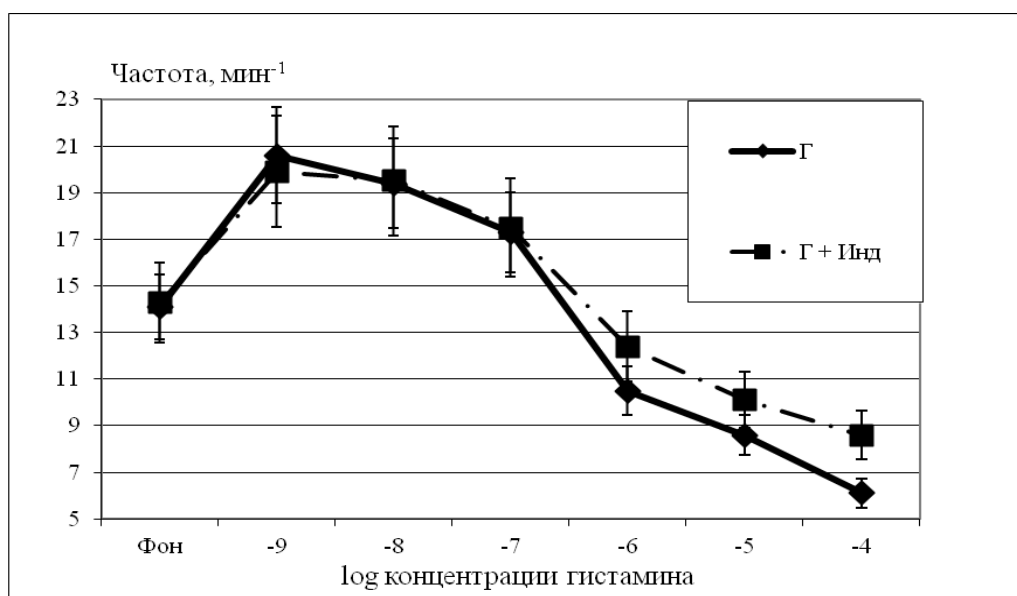


Рис. 3.6 – Действие гистамина на частоту фазных сокращений лимфангионов в условиях блокады синтеза простагландинов

Примечание. Г – гистамин, Инд – индометацин.

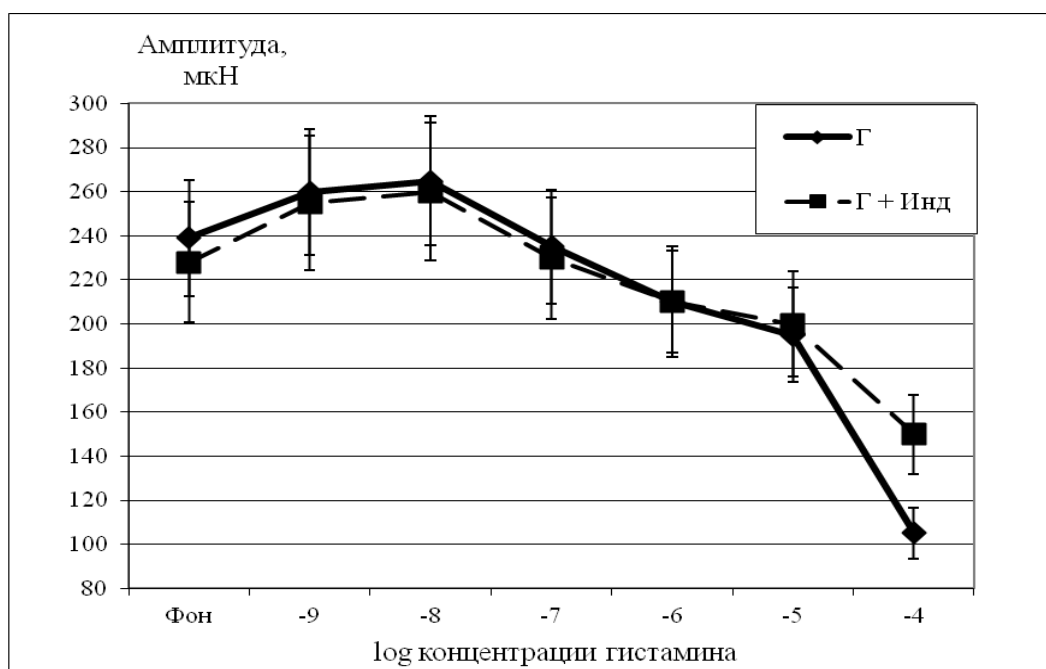


Рис. 3.7 – Действие гистамина на амплитуду фазных сокращений лимфангионов в условиях блокады синтеза простагландинов

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 3.6.

Таблица 5

Действие гистамина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов при применении блокатора синтеза простагландинов индометацина

	Значения lg концентрации гистамина						
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г	14,1±2,1	20,6±1,8	19,4±2,01	17,3±1,4	10,5±1,1	8,6±1,2	6,1±1,8
Г+Инд	14,3±2,5	19,9±1,7	19,5±2,1	17,5±2,7	12,4±1,4	10,1±1,4	8,6±1,5

Примечание. Г – гистамин, Инд – индометацин.

Таблица 6

Действие гистамина на амплитуду (μH) сократительной активности интактных лимфатических сосудов при применении блокатора синтеза простагландинов индометацина

	Значения lg концентрации гистамина						
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г	235±1,1	260±5,1	265±8,04	235±3,9	210±3,6	195±1,04	105±4,6
Г+Инд	228±4,97	255±12,4	260±7,7	230±6,1	210±12,1	200±12,1	150±11,2

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 5.

3.5. Действие гистамина на сократительную активность лимфатических сосудов в условиях применения блокаторов внутри- и внеклеточных источников кальция

Одним из механизмов стимуляции сократительной активности миоцитов лимфатических сосудов является повышение концентрации цитозольного Ca^{2+} вследствие его поступления из интерстициального пространства и внутриклеточных депо [208, 288]. Систематических исследований посвященных анализу активируемых гистамином источников кальция в лимфатических сосудах не проводилось, но на других гладкомышечных объектах получено

следующее: гистамин вызывает повышение концентрации Ca^{2+} в изолированной полоске миоцитов трахеи морской свинки путем поступления внеклеточного кальция через потенциалзависимые каналы L-типа и из внутриклеточных источников – рианодинчувствительных депо [139, 205].

Исследование роли внеклеточного кальция в механизме действия гистамина проводили с применением блокатора медленных кальциевых каналов L-типа – нифедипина в концентрации $3 \cdot 10^{-6}$ М (n=10) [205, 265].

В условиях применения нифедипина стимулирующее влияние гистамина в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-7} М) было менее выраженным: увеличение частоты фазных сокращений составило не более 8,2%–12,5% по отношению к фоновому значению, что в 2 раза ниже, чем при отдельном действии гистамина в указанных концентрациях (рис. 3.8, табл. 7). В указанных условиях действие гистамина в низких концентрациях не вызывало значимых изменений амплитуды фазных сокращений (рис. 3.9, табл. 8), но наблюдалось уменьшение тонуса лимфатического сосуда на $0,15 \pm 0,05$ мН, что ниже, чем в контроле.

Для изучения участия внутриклеточных источников кальция в механизме действия гистамина применяли блокатор инозитолтрифосфатных депо – гепарин (5 Ед/мл) и рианодинчувствительных депо – рианодин ($5 \cdot 10^{-6}$ М).

Для определения вызывающей минимальные изменения моторики концентрации блокатора действие гепарина исследовали в диапазоне концентраций от 0,05 до 50 Ед/мл (n=10) [143, 160]. Только применение гепарина 5 Ед/мл в течение 15 мин не вызывало статистически значимых изменений частоты и амплитуды фазных сокращений лимфангионов (в более низких концентрациях блокатор стимулировал фазную активность, а в высоких – угнетал). Наблюдалось незначительное понижение тонуса на $0,05 \pm 0,02$ мН. В экспериментах гепарин применяли в концентрации 5 Ед/мл.

Использование гепарина уменьшало стимулирующее фазную активность действие гистамина в низких концентрациях, однако полностью не нивелировало (см. рис. 3.8 и 3.9, табл. 7 и 8). Гистамин в концентрациях 10^{-9} и 10^{-8} М в условиях блокады IP_3 -зависимого депо кальция вызывал увеличение частоты фазных

сокращений в среднем на 29,4% и 18,2% соответственно, что ниже на 10,5–15,5%, чем в контроле. Гистамин в концентрации 10^{-7} М в указанных условиях не вызывал статистически значимых хронотропных реакций в лимфангионах. Величины амплитуды фазных сокращений лимфатических сосудов в указанных условиях статистически значимо от полученных в контроле не отличались. Тонические реакции не проявлялись.

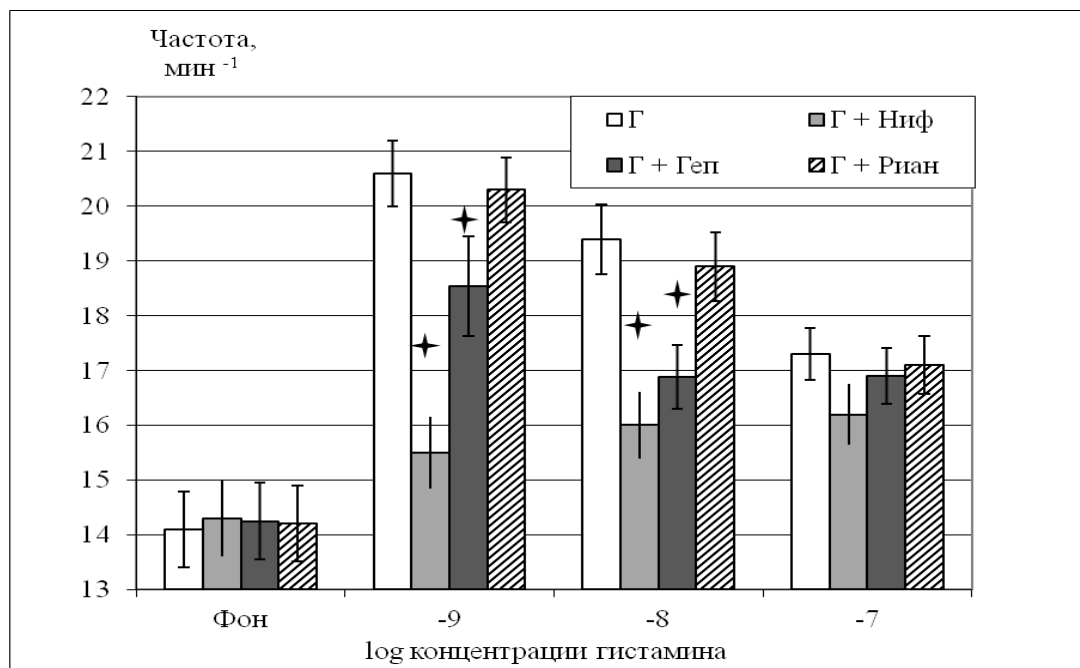


Рис. 3.8 – Действие гистамина на частоту фазных сокращений лимфангионов в условиях блокады различных путей поступления ионов кальция в цитозоль

Примечания. 1. Знаком ✦ обозначены статистически значимые различия по сравнению с отдельным применением гистамина ($p < 0,05$).

2. Г – гистамин, Ниф – нифедипин, Геп – гепарин, Р – рианодин.

Действие блокатора рианодинчувствительных рианоина исследовали в диапазоне концентраций от $5 \cdot 10^{-8}$ до $5 \cdot 10^{-4}$ М [234]. Применение рианоина $5 \cdot 10^{-6}$ М в течение 15 мин не вызывало статистически значимых изменений частоты и амплитуды фазных сокращений лимфангионов ($n=10$).

Ингибирование рианодинчувствительных депо не приводило к изменению в реакциях лимфатических сосудов на действие гистамина в диапазоне низких концентраций (см. рис. 3.8 и 3.9, табл. 7 и 8).

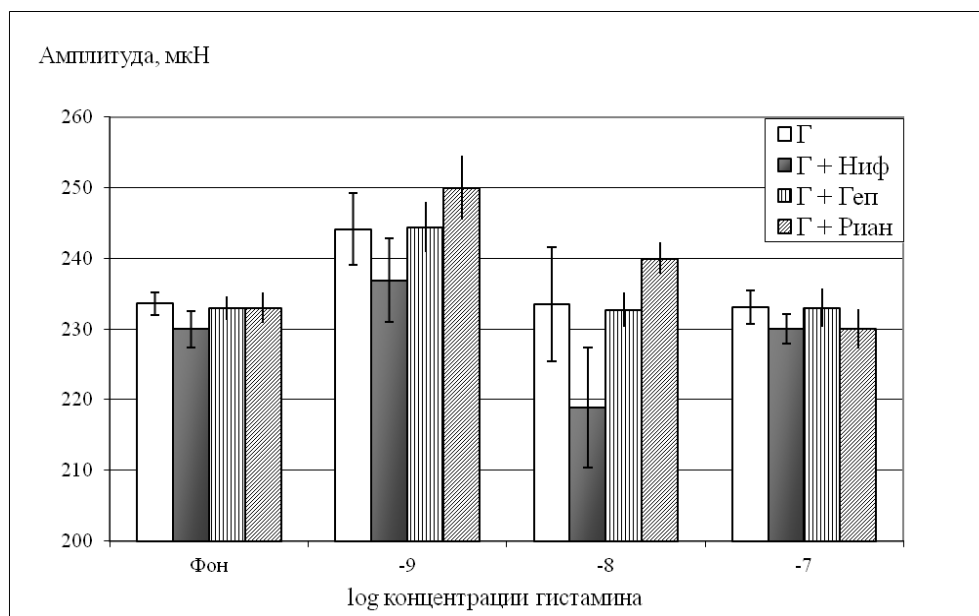


Рис. 3.9 – Действие гистамина на амплитуду фазных сокращений лимфангионов в условиях блокады различных путей поступления ионов кальция в цитозоль

Примечание. Г – гистамин, Ниф – нифедипин, Геп – гепарин, Р – рианодин..

Таблица 7

Действие гистамина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов при применении блокаторов различных путей повышения концентрации цитозольного кальция

	Значения lg концентрации гистамина			
	Фон	-9	-8	-7
Г	14,1±2,1	20,6±1,8	19,4±2,01	17,3±1,4
Г+Ниф	14,3±2,2	15,5±2,1	16,1±1,9	16,2±1,7
Г+Геп	14,3±2,2	18,54±2,9	16,9±1,9	16,8±1,6
Г+Р	14,2±2,1	20,3±1,9	18,9±2,0	17,1±1,5

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 3.9.

Действие гистамина на амплитуду (мкН) сократительной активности интактных лимфатических сосудов при применении блокаторов различных путей повышения концентрации цитозольного кальция

		Значения lg концентрации гистамина		
	Фон	-9	-8	-7
Г	235±1,1	260±5,1	265±8,04	235±3,9
Г+Ниф	230±2,6	236,9±5,9	218,9±8,5	230±2,04
Г+Геп	233±1,7	244,4±3,5	232,7±2,4	233±2,7
Г+Р	233±2,1	255±4,6	260±2,2	230±2,8

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 7.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Повышение концентрации гистамина вследствие дегрануляции тучных клеток приводит к увеличению объема интерстициальной жидкости и стимуляции лимфотока [214, 237]. Также гистамин влияет на лимфоток посредством взаимодействия с рецепторами в стенке лимфатического сосуда [281].

В наших исследованиях показано, что гистамин в концентрациях 10^{-9} – 10^{-4} М модулирует лимфоток через H_1 и H_2 типы рецепторов в стенке лимфангиона крысы. Сходный эффект гистамина был отмечен в брыжеечных лимфатических сосудах быка [287].

Гистамин в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-7} М) стимулирует фазную активность лимфангионов через H_1 рецепторы, что подтверждается уменьшением эффекта в условиях их блокады дифенгидраминам. Подобным образом влияние гистамина осуществляется в брыжеечных лимфатических сосудах морской свинки, быка, трахеобронхиальных лимфатических сосудах свиньи [252, 281, 287].

Методика микроэлектродной внутриклеточной регистрации мембранного потенциала в гладкомышечных клетках брыжеечных лимфатических сосудов морской свинки позволила установить, что причиной стимулирующего действия гистамина в низких концентрациях является деполяризация плазматической мембраны миоцитов, которая наблюдается в результате повышения скорости спонтанной диастолической деполяризации пейсмекера [154]. В нашей работе внутриклеточные реакции не исследовались, но, скорее всего, они имеют схожий механизм.

Стимуляция сократительной активности миоцитов vasoактивными веществами может осуществляться через повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле [199, 205]. Ca^{2+} в цитозоль может поступать из интерстициального пространства и из внутриклеточных источников [102, 116, 156].

В наших исследованиях H_1 -опосредованное стимулирующее действие гистамина в низких концентрациях проявлялось в большей степени путем увеличения частоты фазных сокращений и было связано с поступлением ионов кальция из интерстициального пространства через медленные Ca^{2+} каналы L-типа, что подтверждалось уменьшением констрикторного влияния тестируемого вещества при применении нифедипина. Сходные результаты получены в других гладкомышечных объектах: механизм гистамин-индуцированной констрикции в изолированной пупочной артерии человека был связан с поступлением в миоциты внеклеточного кальция, что подтверждалось снижением стимулирующего влияния гистамина в бескальциевом растворе и в условиях блокирования кальциевых каналов L-типа [142].

В культуре эндотелиальных и гладкомышечных клеток легочной артерии человека с использованием методики микроскопии J.R. Mauban (2006) показано, что под действием гистамина наблюдается повышение концентрации цитозольного кальция в бескальциевом растворе через поступление иона из внутриклеточных депо. При этом использование ингибиторов Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулума циклопиазоновой кислоты и тапсигарина в эндотелиоцитах, а также блокаторов рианодинных источников Ca^{2+} – кофеина и

рианодина не приводило к полному прекращению гистамин-индуцированных осцилляций ионов кальция, что свидетельствует, по мнению авторов, о наличии в эндотелиоцитах другого типа депо кальция [179].

В наших исследованиях установлено, что из внутриклеточных источников кальция гистамином в лимфатических сосудах использует IP_3 -зависимые депо, но не рианодиновые. Исследователем Leurs R. (1995) также было отмечено, что гистамин вызывает продукцию IP_3 в клетках различных гладкомышечных тканей, включая сосудистую [128, 281]. В свою очередь повышение концентрации IP_3 приводит к увеличению концентрации Ca^{2+} в цитозоле путем его выхода из саркоплазматического ретикулума [276, 277].

Исследования на молекулярном уровне выявили, что H_1 рецепторы связаны с G протеинами, которые через киназу II типа увеличивают синтез фосфолипазой C инозитолтрифосфата, активируя IP_3 -сигнальный путь [103, 262].

Ингибирующее фазную активность действие гистамина в высоких концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} M) уменьшалось в условиях применения блокатора H_2 рецепторов циметидина, что свидетельствует о преимущественной роли H_2 рецепторов в развитии эффекта. Сходный эффект гистамина был получен в брыжеечных лимфатических сосудах морской свинки [154] и в лимфатических сосудах брыжейки быка [287].

Исследование молекулярных механизмов действия гистамина показало, что H_2 рецепторы являются Gs-протеин ассоциированными. Gs-протеины связаны с аденилатциклазой. Активация этого фермента увеличивает внутриклеточную концентрацию цАМФ, вызывая торможение сокращений гладкомышечных клеток благодаря увеличению длительности спонтанной диастолической деполяризации [93, 175]. Молекулярные механизмы реакций в нашей работе не исследовались, но, по-видимому, имеют схожий характер.

Известно также, что интактный эндотелий лимфатических сосудов принимает активное участие в регуляции сократительной активности миоцитов, выделяя различные вазодилататоры из которых большинство авторов называет оксид азота [150, 231, 249]. Reeder L.B. (1994) показано, что влияние гистамина в

трахеобронхиальных лимфатических сосудах свиньи осуществляется путем выделения эндотелиального гиперполяризующего фактора эндотелиоцитами [248].

В наших исследованиях удаление эндотелия вызывало изменения в характере ответных реакций лимфатических сосудов на действие гистамина – наблюдалось снижение ингибирующей фазную активность влияния гистамина в высоких концентрациях, что свидетельствует о наличии H_2 рецепторов на эндотелиоцитах. Рецепторы к гистамину выявлены на мембране эндотелиальных клеток в брыжеечных лимфатических сосудах быка, трахеобронхиальных лимфатических сосудах свиньи и морской свинки [154, 248, 287].

Применение блокатора синтеза NO – L-NAME показало, что действие гистамина в высоких концентрациях осуществляется через увеличение выделения оксида азота. Подобные результаты получены Ferguson M.K. (1994) в трахеобронхиальных лимфатических сосудах свиньи [152].

Внутриклеточные механизмы реакции в нашей работе не рассматривались, но естественно было предположить, что эндотелийзависимый эффект гистамина в лимфатических сосудах связан с развитием NO-зависимых опосредованных реакций [97, 107].

В эндотелиоцитах пупочной вены человека действие гистамина приводило к повышению синтеза простагландинов [176].

Участие простагландинов в эффекте гистамина нами исследовалось с применением индометацина – ингибитора биосинтеза простагландинов – и показало, что данный механизм в лимфатических сосудах тоже присутствует, но является менее значимым по сравнению с NO-зависимым. Подобный механизм действия гистамина полученным в мезентериальных лимфатических сосудах морской свинки, а также в изолированных артериях быка, аорте и легочной артерии крысы [110, 154, 262, 299].

Действие R- α -метилгистамина не привело к изменению фазной активности и тонуса, что свидетельствует об отсутствии H_3 рецепторов в стенке мезентериальных лимфатических сосудов крысы. Полученные нами результаты

согласуются с экспериментальными данными Fox J.L. (2002), в которых также отмечалось отсутствие H_3 рецепторов в мезентериальных лимфатических сосудах морской свинки [154].

Резюме

1. Гистамин дозозависимо модулирует сократительную активность лимфангионов кишечного ствола белой крысы. В спонтанно неактивных лимфатических сосудах он может стимулировать фазную активность.

2. Влияние гистамина осуществляется посредством активации H_1 и H_2 типов рецепторов. H_1 рецепторы преимущественно локализуются на миоцитах, а H_2 – на эндотелиальных клетках лимфатических сосудов.

3. Гистамин в низких концентрациях стимулирует фазную активность через H_1 рецепторы, а в высоких – снижает, действуя на H_2 рецепторы.

4. H_3 рецепторов в лимфангионах кишечного ствола не обнаружено.

5. Активация H_1 рецепторов гистамином связана с увеличением концентрации ионов кальция в цитозоле путем поступления внеклеточного Ca^{2+} через потенциалзависимые каналы L-типа и из внутриклеточных IP_3 -чувствительных депо Ca^{2+} .

6. Влияние гистамина на лимфатические сосуды, опосредованное активацией H_2 рецепторов, связано с увеличением синтеза NO и простагландинов.

Глава 4. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ СЕРОТОНИНА НА ИНТАКТНЫЕ ЛИМФАНГИОНЫ

4.1. Действие серотонина на спонтанную фазную сократительную функцию интактных лимфатических сосудов

В данном разделе исследования проводились на интактном изолированном сегменте (лимфангионах) кишечного ствола белой крысы (n=12).

В спонтанно неактивных сосудах, которые составили 30% от общего количества, под действием серотонина (10^{-6} М) проявлялась фазная активность в 100% случаев. Основная часть экспериментов проводилась с использованием лимфатических сосудов, обладающих спонтанной фазной активностью. Через 20 минут после начала эксперимента в исследуемых лимфатических сосудах, как правило, стабилизировались тонус и параметры спонтанной фазной активности. В среднем частота спонтанного ритма одиночных фазных сокращений сегментов лимфатических сосудов в данной серии опытов составила – $13,1 \pm 0,65$ мин⁻¹, амплитуда – $103,1 \pm 4,5$ мкН.

После стабилизации параметров спонтанной активности применяли серотонин в возрастающих концентрациях 10^{-9} – 10^{-4} М. Влияние серотонина на лимфатические сосуды вызывало рост амплитуды фазных сокращений и повышение тонуса (рис. 4.1). Статистически значимые изменения параметров сократительной активности лимфатического сосуда были получены в ответ на действие серотонина в концентрации 10^{-8} М: амплитуда фазных сокращений была в среднем на 17,5% выше по сравнению с фоновой величиной ($p < 0,05$) (см. табл. 9). Значения амплитуды фазных сокращений при действии серотонина в концентрациях 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} и 10^{-4} М были выше фонового уровня в среднем на 23,9%, 44,5%, 81,1% и 63,0% соответственно. Тонус лимфатических сосудов в ответ на действие серотонина во всем диапазоне исследуемых концентраций увеличивался на 0,2–0,55 мН по отношению к исходному уровню.

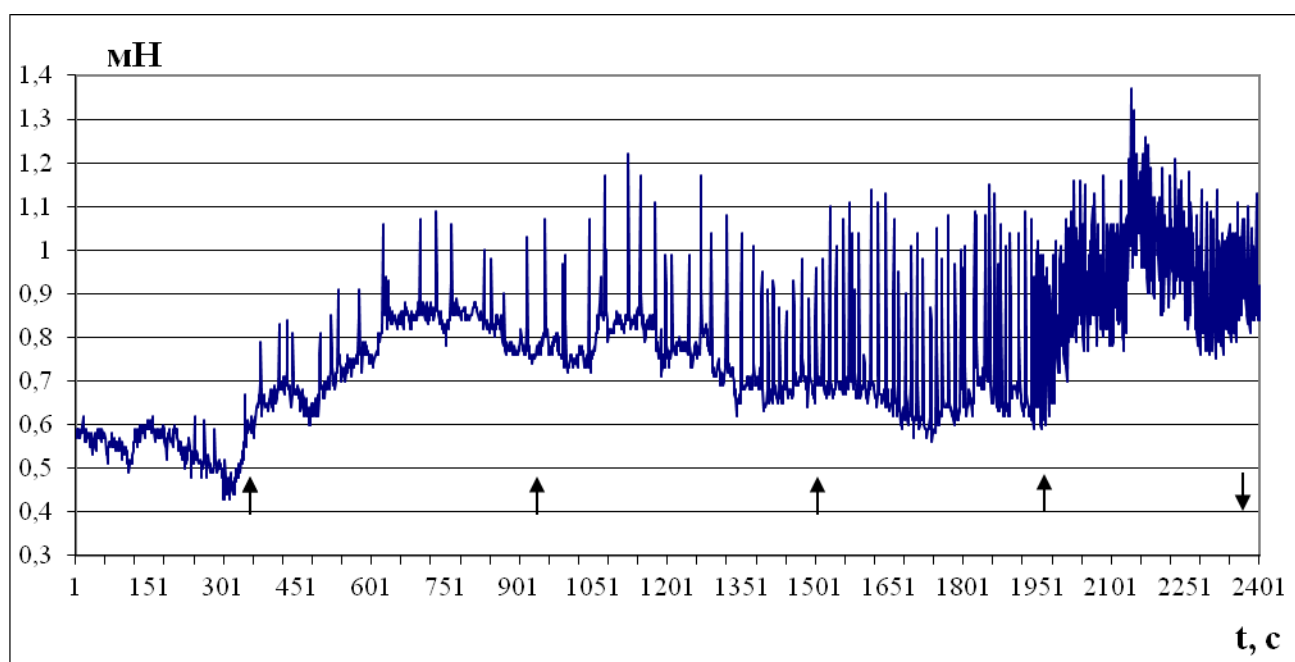


Рис. 4.1 Действие серотонина на сократительную активность лимфатических сосудов

Примечание. Стрелками вверх показаны моменты применения серотонина в концентрациях 10^{-8} – 10^{-4} М, стрелочкой вниз – отмывание.

Таблица 9

Действие серотонина на амплитуду (мкН) сократительной активности интактных лимфатических сосудов в условиях блокады рецепторов

		Значения lg концентрации серотонина				
	Фон	-8	-7	-6	-5	-4
С	103,1,1±4,5	121,4±4,8	129,4±4,1	145,1±9,7	189,6±8,7	179,7±8,4
С+						
КС	104,9±2,9	98±3,9	108,5±3,5	100,9±5,2	92,5±5,7	104,99±4,2
С+						
Й	105,8±4,5	123±3,1	124,1±3,2	150,5±5,2	149,5±5,1	104,99±4,4

Примечание. С – серотонин, КС – кетансерин, Й – йохимбин.

Статистически значимых изменений частоты фазных сокращений лимфатических сосудов во всем диапазоне исследуемых концентраций серотонина выявлено не было (см. табл. 10).

Действие серотонина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов в условиях блокады рецепторов

		Значения lg концентрации серотонина				
	Фон	-8	-7	-6	-5	-4
С	13,1±2,1	12,9±2,2	12,4±1,7	14,1±1,6	12,9±1,9	12,5±1,9
С+						
КС	12±1,3	16,8±1,4	14,8±0,93	15,6±1,07	15,3±1,4	12±1,3
С+						
Й	13±1,5	12±1,3	13,3±1,3	15,01±1,2	12±1,4	13±1,1

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 9.

Реакции лимфатических сосудов на действие 5-НТ в исследуемом диапазоне концентраций были обратимы – параметры сократительной активности восстанавливались через 15–20 мин после отмывания раствором Кребса.

Значения параметров сократительной активности лимфангионов, полученные в результате действия серотонина в исследуемом диапазоне концентраций, в дальнейшем использовались в качестве контрольных значений для каждой концентрации действующего вещества.

4.2. Действие серотонина на изолированные интактные лимфатические сосуды в условиях применения блокаторов рецепторов

Изучение механизма действия серотонина проводили с применением блокаторов специфических рецепторов 5-НТ₂ (n=10).

Для исследования возможного влияния на моторику лимфангионов кетансерина – блокатора 5-НТ₂ рецепторов – его действие исследовали в диапазоне концентраций $5 \cdot 10^{-8}$ – 10^{-4} М. Применение кетансерина в концентрациях $5 \cdot 10^{-8}$ – 10^{-6} М в течение 15 мин не вызывало статистически значимых изменений

моторики лимфангионов и тонических реакций. Кетансерин в более высоких концентрациях вызывал угнетение фазной активности лимфатических сосудов и снижение тонуса. Для раскрытия механизма действия серотонина блокатор использовали в концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ М.

Стимулирующее влияние серотонина (10^{-8} – 10^{-5} М) в условиях применения кетансерина снижалось: статистически значимого роста амплитуды получено не было (рис. 4.2, табл. 9). Более того амплитуда фазных сокращений лимфангионов в указанных условиях была ниже фоновой на 3,9-11% ($3,9 \pm 1,5$ – $11,4 \pm 2,1$ мкН).

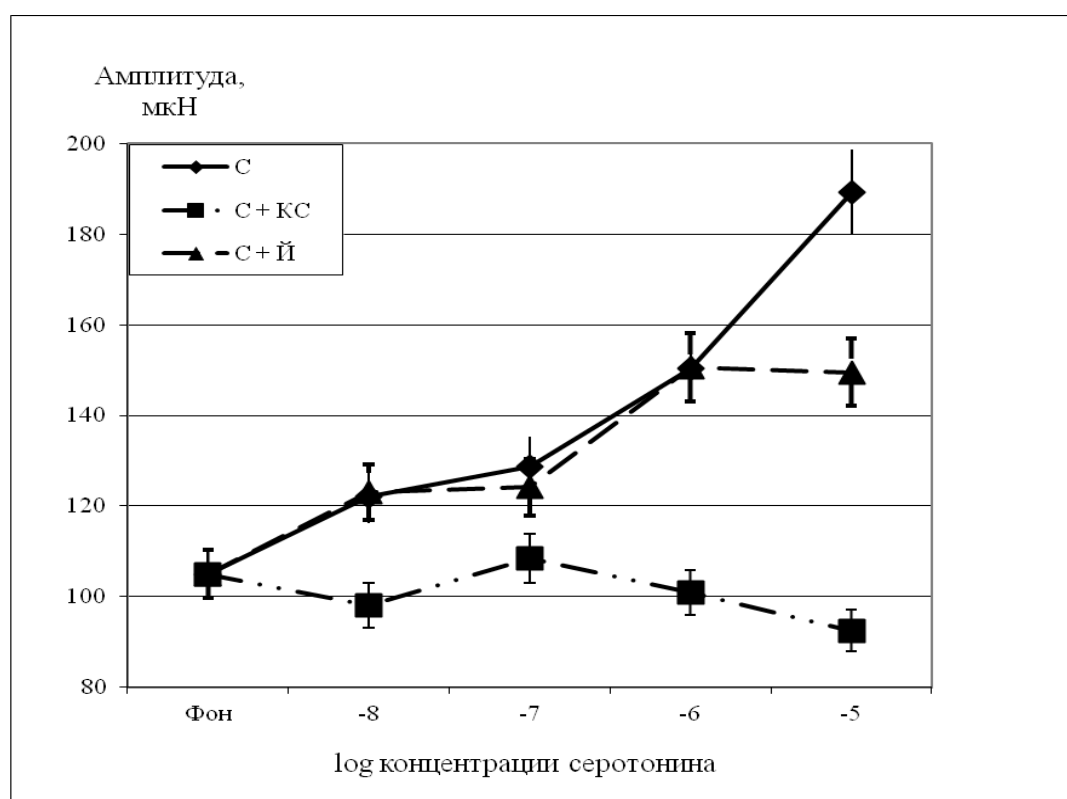


Рис. 4.2 – Действие серотонина на амплитуду фазных сокращений интактных лимфатических сосудов в условиях применения блокаторов

Примечание. С – серотонин, КС – кетансерин, Й – йохимбин.

В условиях применения кетансерина 5-НТ вызывал увеличение частоты фазных сокращений (см. рис. 4.3, табл. 10). Максимальный прирост частоты наблюдался в ответ на действие серотонина в концентрации 10^{-8} М: частота фазных сокращений была выше фоновой в среднем на 27,9% ($p < 0,05$). Серотонин в более высоких концентрациях (10^{-7} – 10^{-5} М) менее значимо стимулировал

частоту фазных сокращений лимфатического сосуда – прирост составил 12-18% по отношению к фоновому уровню.

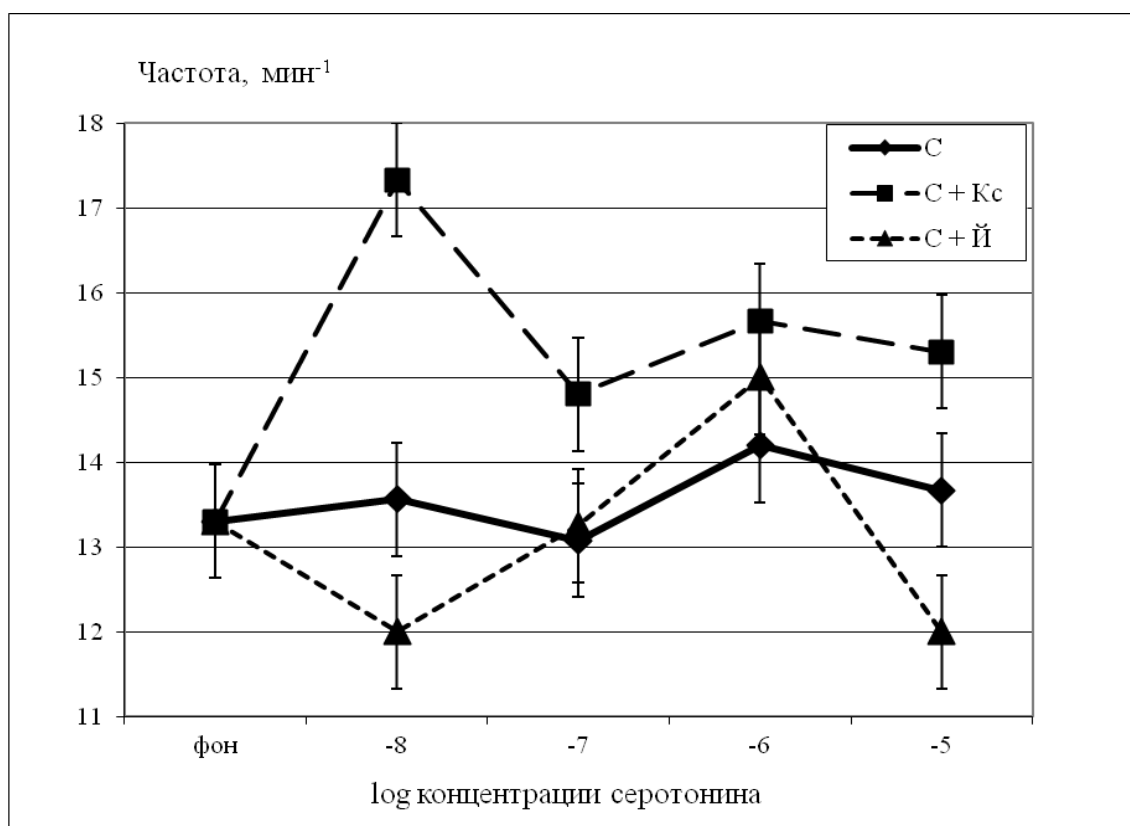


Рис. 4.3 – Действие серотонина на частоту фазных сокращений интактных лимфатических сосудов в условиях применения блокаторов

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 4.2.

Тонических реакций в лимфатических сосудах действие 5-НТ в исследуемом диапазоне концентраций в условиях применения кетансерина не наблюдалось.

В лимфатических сосудах передней лапы наркотизированной собаки стимулирующее влияние серотонина осуществлялось не только посредством 5-НТ₂ рецепторов, но и через α -адренорецепторы [131]. Так как применение блокатора 5-НТ₂ рецепторов полностью не устраняло эффекта серотонина, то дальнейшее изучение механизма действия 5-НТ проводили с применением блокатора α_2 -адренорецепторов (n=10).

Действие блокатора α_2 -адренорецепторов йохимбина в диапазоне концентраций $3 \cdot 10^{-8}$ – 10^{-4} М с экспозицией в течение 15 минут не вызывало статистически значимых изменений моторики в лимфангионах (n=10). Для исследования механизма действия серотонина блокатор использовали в концентрации $3 \cdot 10^{-6}$ М [184].

Значения частоты и амплитуды фазных сокращений, полученные при действии 5-НТ в концентрациях 10^{-8} – 10^{-6} М в условиях блокады α_2 -адренорецепторов, статистически значимо не отличались от наблюдавшихся в контроле (см. рис. 4.2 и 4.3 и, табл. 9 и 10).

Эффект серотонина в высоких концентрациях (10^{-5} – 10^{-4} М) на фоне йохимбина был менее выражен по отношению к отдельному использованию тестируемого вещества: амплитуда фазных сокращений увеличивалась в среднем на $150,5 \pm 7,3$ мН, что на 20% меньше, чем при отдельном применении 5-НТ в данных концентрациях. Значимых отличий частоты фазной активности и уровня тонического напряжения от фонового уровня в указанных условиях получено не было.

4.3. Влияние серотонина на лимфангионы без эндотелия и в условиях блокады синтеза NO

Наличие тонических реакций в лимфангионах на действие серотонина в концентрациях 10^{-8} – 10^{-4} М, вызывает предположение о возможном участии эндотелийзависимого механизма, связанных с уменьшением выделения эндотелиоцитами релаксантов – оксида азота и простагландинов [158, 217].

С целью изучения эндотелийзависимого компонента в реакции лимфатического сосуда на действие серотонина у части препаратов (n=10) был удален эндотелий с применением методики, описанной ранее в главе 2.

Влияние удаление эндотелия на моторику лимфангионов продемонстрировано ранее в главе 3. Частота фазных сокращений сосудов без эндотелия составила $14,99 \pm 0,65$ мин⁻¹ (на 7,6% выше, чем в интактных

лимфангионах), амплитуда фазных сокращений составила $105,75 \pm 7,33$ мкН (значимо не отличается от амплитуды в интактных лимфангионах).

Деэндотелизированные лимфатические сосуды реагировали на действие серотонина в исследуемом диапазоне концентраций снижением частоты фазных сокращений, которое составило для тестируемого вещества в концентрациях 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} и 10^{-5} М – 8,9%, 22,2%, 32,1% и 14,4% соответственно. Статистически значимых изменений амплитуды и тонуса по отношению к фоновым значениям не наблюдалось (рис. 4.4 и 4.5, табл. 11 и 12).

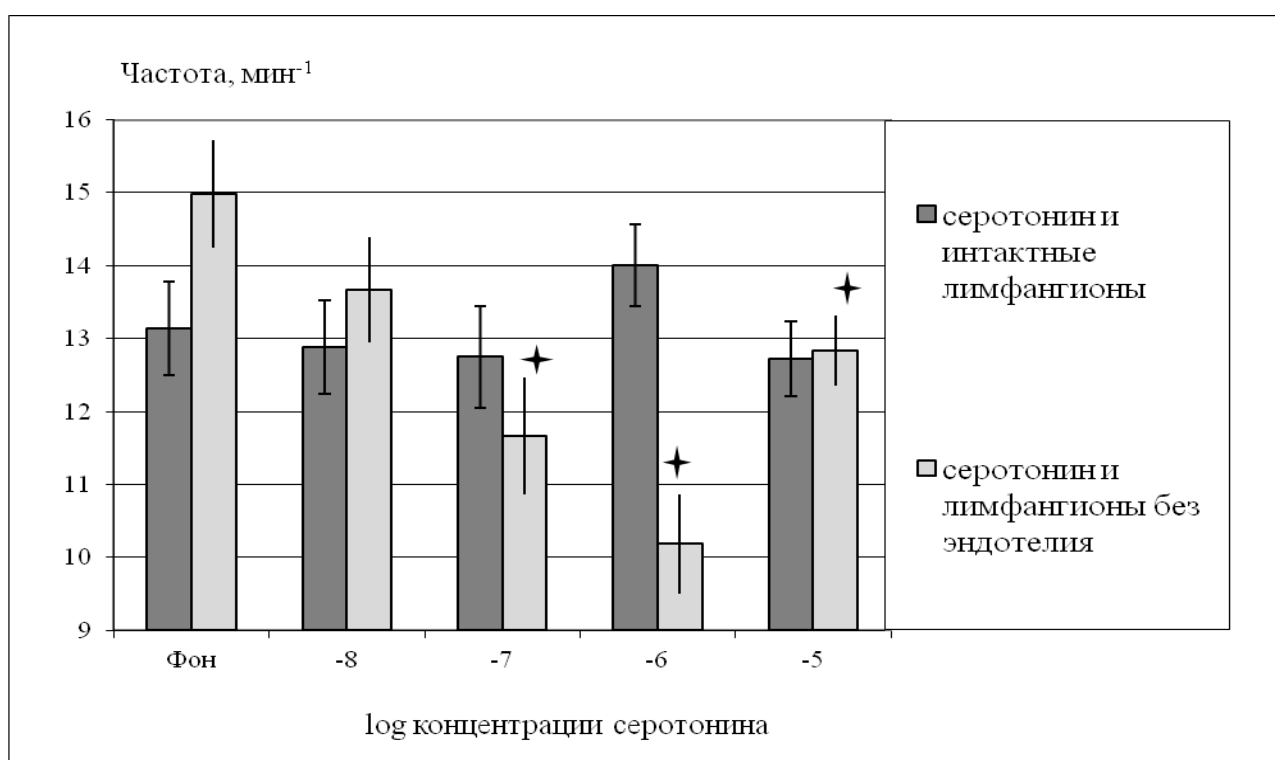


Рис. 4.4 – Действие серотонина на частоту фазных сокращений интактных лимфатических сосудов и лимфангионов без эндотелия

Примечание. Знаком ★ обозначены статистически значимые различия по сравнению с фоном ($p < 0,05$).

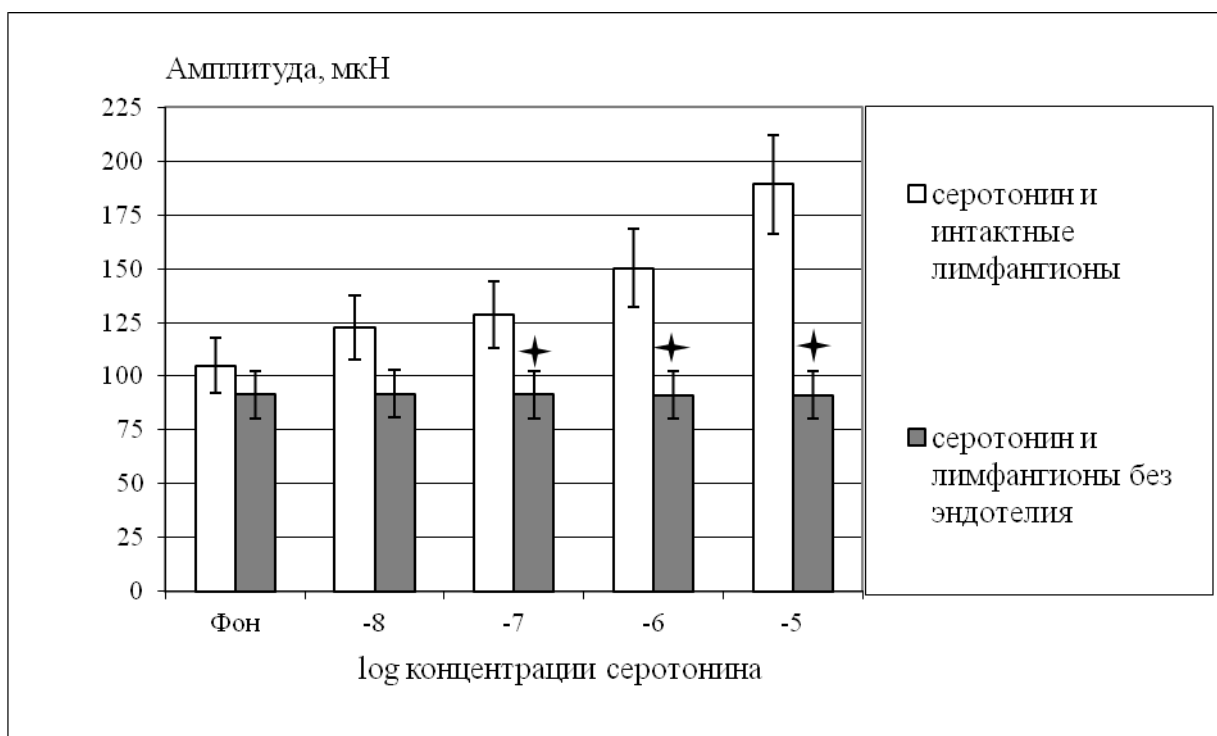


Рис. 4.5 – Действие серотонина на амплитуду фазных сокращений интактных лимфатических сосудов и лимфангионов без эндотелия

Примечание. Знаком \star обозначены статистически значимые различия по сравнению с отдельным применением серотонина ($p < 0,05$).

Таблица 11

Действие серотонина на амплитуду (мкН) сократительной активности интактных лимфатических сосудов в условиях удаления эндотелия

	Значения lg концентрации серотонина					
	Фон	-8	-7	-6	-5	-4
Интактные ЛС	103,1,1±4,5	121,4±4,8	129,4±4,1	145,1±9,7	189,6±8,7	179,7±8,4
ЛС без эндотелия	105,7±7,33	107,5±3,4	102,4±3,2	108,1±3,1	103,8±2,9	102,2±4,9

Примечание. ЛС – лимфатические сосуды.

Действие серотонина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов в условиях удаления эндотелия

		Значения lg концентрации серотонина				
	Фон	-8	-7	-6	-5	-4
Интактные ЛС	13,1±2,1	12,9±2,2	12,4±1,7	14,1±1,6	12,9±1,9	12,5±1,9
ЛС без эндотелия	14,10±0,7	13,8±0,7	11,9±0,6	11,5±0,4	12,8±1,1	12,1±0,5

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 11.

Серотонин стимулировал сократительную активность вены крысы путем угнетения синтеза NO эндотелиоцитами [129].

Для проверки подобной гипотезы о механизме действия 5-НТ в лимфатических сосудах крысы была проведена серия экспериментов с применением донора оксида азота – нитропруссид натрия (SNP) в концентрации 10^{-6} М (n=10).

Использование серотонина в высоких концентрациях (10^{-4} – 10^{-5} М) на фоне SNP в лимфатических сосудах с интактным эндотелием приводило к снижению стимулирующего влияния 5-НТ. Амплитуда фазных сокращений в указанных условиях была выше только на 8,2% по сравнению с исходным уровнем ($p>0,5$), частота сократительной активности по отношению к фоновой величине статистически значимо не изменялась. Тонус лимфатического сосуда снижался на $0,25\pm0,05$ мН по сравнению с фоновым уровнем ($p<0,5$).

4.4. Влияние серотонина на сократительную активность лимфангионов в условиях блокады синтеза простагландинов

В кровеносных сосудах показано, что стимулирующее сократительную активность влияние 5-НТ может также осуществляться посредством ингибирования синтеза простагландинов [193].

Для изучения роли простагландинов в механизме действия серотонина в интактных лимфангионах применяли ингибитор циклооксигеназ (или простагландинсинтаз) индометацин (10^{-6} М) [264]. Тестирование блокатора описано ранее в главе 3.

Серотонин в высоких концентрациях (10^{-4} – 10^{-5} М) на фоне индометацина оказывал менее выраженное стимулирующее влияние на лимфатические сосуды: амплитуда фазных сокращений составила в среднем $177,3 \pm 12,8$ мкН, что ниже чем в контроле на 12-15%. Частота фазных сокращений в указанных условиях составила $9,1 \pm 0,7$, что на 29,4-33,3% ниже фонового значения ($p < 0,5$). Тонические реакции не отличались от наблюдаемых при отдельном применении серотонина в указанном диапазоне концентраций.

4.5. Действие серотонина на сократительную активность лимфатических сосудов в условиях применения блокаторов внутри- и внеклеточных источников кальция

Один из возможных внутриклеточных механизмов стимулирующего сократительную активность лимфангионов влияния серотонина – повышение концентрации цитозольного кальция [208, 232]. Систематических исследований, посвященных анализу источников кальция активируемых 5-НТ для стимуляции сократительной активности лимфатических сосудов, не проводилось, но в гладкомышечных клетках аорты крысы серотонин вызывает повышение концентрации кальция в цитозоле путем поступления иона из интерстициального пространства [46].

В данной серии экспериментов изучалось влияние внеклеточных и внутриклеточных источников кальция, которые активируются серотонином в лимфатических сосудах.

Исследование участия внеклеточного кальция в механизме действия серотонина проводили с применением блокатора медленных кальциевых каналов

L-типа нифедипина $3 \cdot 10^{-6}$ М (n=10). Тестирование блокатора показано ранее в главе 3.

В условиях применения нифедипина стимулирующее влияние 5-НТ на лимфатические сосуды уменьшалось: в диапазоне низких концентраций серотонина (10^{-8} – 10^{-6} М) амплитуда сократительной активности лимфангионов была ниже фонового уровня (рис. 4.6 и 4.7, табл. 13 и 14). Серотонин в концентрациях 10^{-5} и 10^{-4} М вызывал повышение амплитуды фазных сокращений в среднем на 18,3-22,31% по отношению к фоновому уровню, что ниже, чем при отдельном действии 5-НТ в указанных концентрациях. Частота фазных сокращений в указанных условиях статистически значимо от фона не отличалась как и при отдельном применении серотонина во всем диапазоне исследуемых концентраций. Наблюдалось снижение тонуса на $0,1 \pm 0,05$ мН.

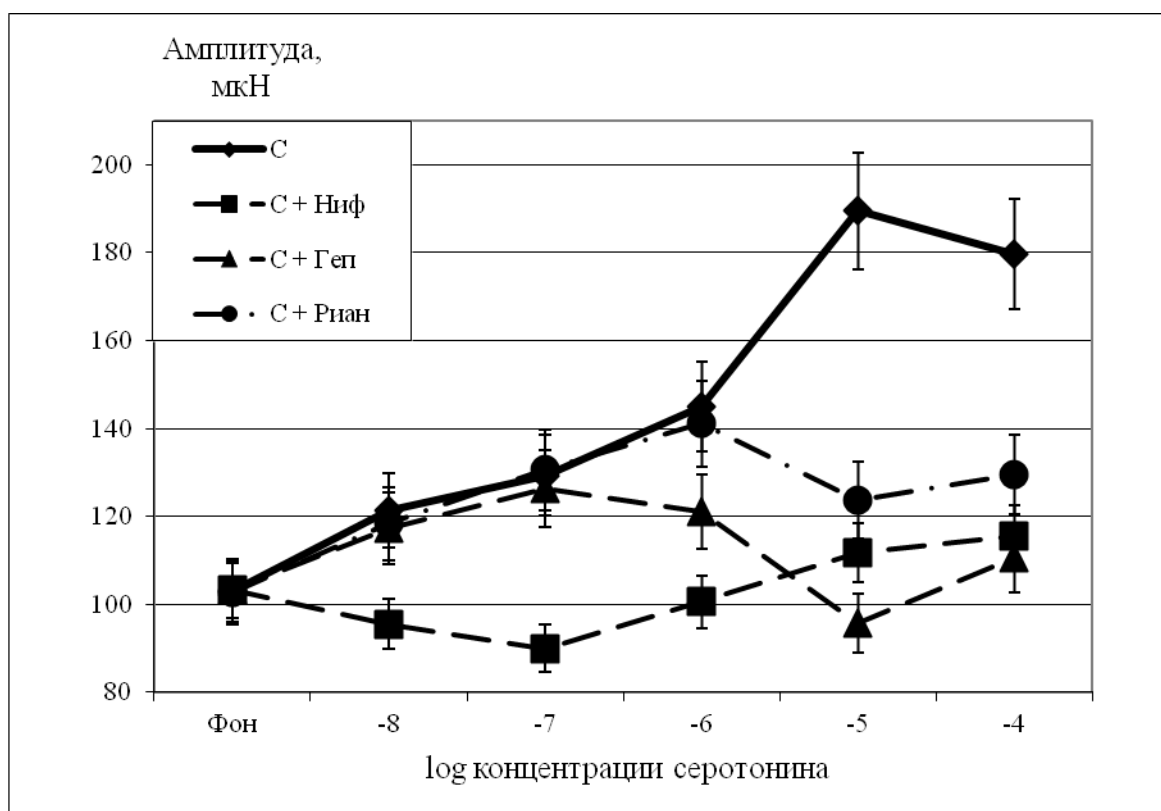


Рис. 4.6. – Действие серотонина на амплитуду фазной активности лимфангионов в условиях применения различных путей поступления кальция

Примечание. С – серотонин, Ниф – нифедипин, Геп – гепарин, Риан – рианодин.

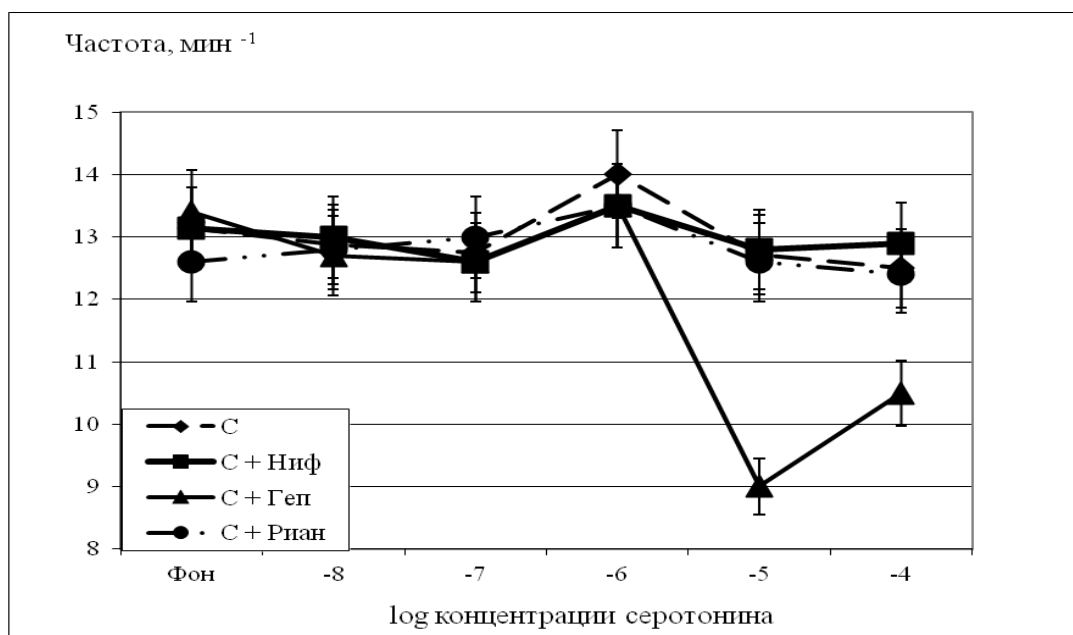


Рис. 4.7. – Действие серотонина на частоту фазной активности лимфангионов в условиях применения различных путей поступления кальция
Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 4.6.

Таблица 13

Действие серотонина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов при применении блокаторов различных путей повышения концентрации цитозольного кальция

	Значения lg концентрации серотонина					
	Фон	-8	-7	-6	-5	-4
С	13,1±2,1	12,9±2,2	12,4±1,7	14,1±1,6	12,9±1,9	12,5±1,9
С +Ниф	13,1±2,1	13,0±1,9	12,8±2,4	13,6±1,6	12,7±1,9	12,9±1,9
С +Геп	13,4±2,3	12,8±1,9	12,6±2,6	13,5±1,3	9,2±1,2	10,5±1,5
С +Р	12,6±1,5	12,8±2,0	13,0±2,1	13,5±1,4	12,6±1,5	12,4±1,8

Примечание. С – серотонин, Ниф – нифедипин, Геп – гепарин, Р – рианодин.

Уменьшение стимулирующего действия 5-НТ в лимфангионах в условиях блокирования кальциевых каналов L-типа, но не его нивелирование, позволяет предположить возможное участие внутриклеточных депо кальция в эффекте серотонина.

Действие серотонина на амплитуду (мкН) сократительной активности интактных лимфатических сосудов при применении блокаторов различных путей повышения концентрации цитозольного кальция

	Фон	Значения lg концентрации серотонина				
		-8	-7	-6	-5	-4
С	103,1,1±4,5	121,4±4,8	129,4±4,1	145,1±9,7	189,6±8,7	179,7±8,4
С +Ниф	103,2±4,7	95,5±3,6	90,01±3,6	100,6±4,2	111,9±4,9	115,5±5,7
С +Геп	103,2±4,7	117,3±5,8	126,3±6,2	121,0±4,5	95,6±5,5	110,6±4,4
С +Р	102,7±4,8	118,4±5,4	130,6±5,5	141,1±4,8	123,7±10,1	129,5±9,4

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 13.

Для изучения возможного вклада IP_3 -зависимого механизма влияния 5-НТ в лимфатических сосудах использовали гепарин. Тестирование блокатора показано ранее в главе 3.

Применение серотонина в концентрациях 10^{-8} – 10^{-5} М на фоне гепарина (5 Ед/мл) приводило к уменьшению эффекта 5-НТ в лимфатических сосудах (см. табл. 13 и 14, рис.4.6 и 4.7). Амплитуда и частота фазных сокращений при действии серотонина в концентрациях 10^{-8} – 10^{-6} М в указанных условиях статистически значимо не отличалось от таковых при отдельном применении вещества. Значения амплитуды фазных сокращений лимфангионов при действии 5-НТ в концентрациях 10^{-5} и 10^{-4} М в данных условиях были ниже по отношению к контролю на 49,6% и 38,2% соответственно, частота фазной активности была ниже на 30,7% и 23,1% по сравнению с фоном соответственно.

Другим возможным источником кальция для серотонина в лимфатических сосудах может быть рианодинзависимое депо.

Тестирование действия рианодина показано в главе 3.

Значения амплитуды и частоты фазных сокращений при действии серотонина в концентрациях 10^{-8} – 10^{-6} М в условиях блокады рианодинзависимого депо кальция не отличалось от таковых в контроле (рис. 4.6

и 4.7, табл. 13 и 14). В условиях действия рианодина только для 5-НТ в концентрациях 10^{-5} и 10^{-4} М амплитуда фазных сокращений составила в среднем 19,6% и 27,4% соответственно по отношению к фоновому уровню, что ниже, чем в контроле на 34,9% и 27,9% соответственно. Достоверных изменений частоты фазных сокращений и тонических реакций при действии 5-НТ в исследуемом диапазоне концентраций на фоне рианодина не прослеживалось.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Серотонин вызывает повышение проницаемости эндотелия капилляров, что приводит к увеличению объема интерстициальной жидкости и стимуляции лимфотока [98, 136]. Также 5-НТ влияет на лимфоток через рецепторы стенки лимфатического сосуда [61, 117, 211].

Результаты экспериментов показали, что серотонин в концентрациях 10^{-8} – 10^{-4} М в лимфатических сосудах крысы дозозависимо стимулирует моторику посредством увеличения амплитуды фазных сокращений и роста тонуса. 5-НТ в низких концентрациях (10^{-8} – 10^{-7} М) в большей степени оказывает влияние на фазный пул миоцитов, а в высоких концентрациях 5-НТ (10^{-6} – 10^{-4} М) – на тонический пул.

Подобные результаты были получены ранее в изолированных объектах: грудном протоке и кишечном стволе крысы, мезентериальных лимфатических сосудах быка, изолированном грудном протоке собаки, изолированных трахеобронхиальных лимфатических сосудах печени свиньи [61, 152, 230, 270]. Эффект 5-НТ *in vivo* в лимфатических сосудах голени и пахового региона человека и в лимфатических сосудах передней лапы собаки также был схожим [123, 133, 134].

Изучение механизма действия 5-НТ показало, что эффект серотонина во всех исследуемых концентрациях осуществляется через 5-НТ₂ специфических рецепторов, что подтверждается снижением стимулирующего влияния серотонина в условиях их блокады кетансерином. В мезентериальных

лимфатических сосудах быка исследователем Miyahara H. (1994) показан аналогичный механизм влияния серотонина [220].

Эффект 5-НТ в высоких концентрациях (10^{-5} и 10^{-4} М) в лимфатических сосудах осуществляется не только посредством 5-НТ₂ рецепторов, но и благодаря адреномиметическому влиянию. Это подтверждается уменьшением выраженности констрикторной реакции лимфатического сосуда на действие серотонина при применении блокатора α_2 -адренорецепторов йохимбина только для высоких концентраций 5-НТ. Подобные результаты получены ранее в пренодальных лимфатических сосудах передней лапы собаки: серотонин стимулировал моторику через 5-НТ₂ и α -адренорецепторы [131].

Фармакологические и молекулярно-биологические методы выявили гетерогенность группы α_2 -адренорецепторов. В миоцитах вен α_2 -адренорецепторы связаны с Rho-киназами, которые активируют протеинкиназу С и вызывают фосфорилирование сократительного аппарата гладкомышечных клеток [91, 253].

Генетическое типирование эмбриональных стволовых клеток мышцы показало, что внутриклеточные механизмы, опосредованные α_2 -адренорецепторами, связаны с Gi, G_(o), Gs и G_{q/11} протеинами, активация которых приводит к уменьшению внутриклеточной концентрации цАМФ. Инотропные механизмы внутриклеточной сигнализации α_2 -адренорецепторов связаны с управлением состоянием потенциалзависимых Ca²⁺ и K⁺ каналов, активация которых может приводить к стимуляции или торможению фазной активности [126, 127].

5-НТ₂ рецепторы связаны с Gq-протеином, который, в свою очередь, активирует фосфолипазу С, что приводит к повышению внутриклеточной концентрации IP₃ и выходу ионов кальция из IP₃-чувствительных внутриклеточных депо [94].

Внутриклеточные пути сигнализации 5-НТ в лимфангионах в работе не исследовались, но, вероятно, они имеют схожий механизм.

Изучение различных источников кальция, которые может активировать 5-НТ, показало, что серотонин вызывает поступление внеклеточного Ca^{2+} через медленные каналы L-типа, так как стимулирующее действие серотонина во всем диапазоне исследуемых концентраций уменьшалось при применении нифедипина.

В других гладкомышечных объектах были получены схожие результаты: стимулирующее влияние серотонина в изолированной общей сонной артерии крысы, опосредованное 5-НТ₂ рецепторами, уменьшалось при применении нифедипина [244]. В миоцитах изолированной дорзальной вены руки человека и в коронарных сосудах собаки эффект 5-НТ был связан с повышением концентрации внутриклеточного кальция, который поступал из интерстициального пространства через потенциалзависимые каналы L-типа [141, 144]. Но в коронарных артериях свиньи стимулирующее влияние серотонина, опосредованное 5-НТ_{2A} и 5-НТ_{2C} типами рецепторов осуществлялось в результате поступления Ca^{2+} через кальций-активируемые Cl^- каналы [263].

Анализ внутриклеточных источников кальция, активируемых серотонином в исследуемом диапазоне концентраций, установил, что 5-НТ в большей степени использует IP_3 -зависимые депо, что подтверждается уменьшением выраженности эффекта вещества в условиях действия гепарина. Подобный механизм влияния серотонина в лимфатических сосудах ранее показан не был, но сократительный ответ изолированной коронарной артерии свиньи, опосредованный действием серотонина на 5-НТ₂ рецепторы, осуществлялся через активацию IP_3 -зависимого депо ионов кальция саркоплазматического ретикулюма [263].

Установлено наличие определенного структурного сходства сократительных белков лимфатических гладкомышечных клеток мезентериальных сосудов и скелетных мышц, что предусматривает схожие механизмы их активации [199, 223]. Впервые показано, что серотонин использует также и рианодинзависимый внутриклеточный источник кальция. Этот источник Ca^{2+} активизируется только на действие 5-НТ в высоких концентрациях – 10^{-5} и 10^{-4} М.

Исследования на молекулярном уровне показали, что в гладкомышечных клетках активный кальмодулин непосредственно активирует кальциевые каналы саркоплазматического ретикулума, связанные с рианодиновыми рецепторами. Другим возможным способом активации рианодинового источника кальция является его фосфорилирование цАМФ-зависимой протеинкиназой А или Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой протеинкиназой II. Активный рианодиновый рецептор способствует отделению ионов Ca^{2+} от функционально связанного с ним кальсеквестрина [92, 234]. В работе внутриклеточные реакции, связанные с активацией рианодиновых рецепторов не исследовались, но, скорее всего, они имеют схожий механизм.

Деэндотелизация изменяла характер ответных реакций лимфатических сосудов на действие серотонина: наблюдался дозозависимый отрицательный хронотропный эффект, положительное инотропное влияние 5-НТ не проявлялось, тонические реакции отсутствовали. Результаты не согласуются с полученными ранее Miyahara H. (1994) в изолированных мезентериальных лимфатических сосудах быка удаление эндотелия не оказывало статистически значимого влияния на действие серотонина, опосредованное 5-НТ₂ [220]. Расхождение в результатах может быть связано с различной видовой и регионарной принадлежностью объектов исследования, так как, присутствие рецепторов к серотонину на эндотелиоцитах в мезентериальных лимфатических сосудах подтверждается Chan A.K. (2003) [117].

Вероятной причиной изменения эффекта серотонина в лимфангионах после удаления эндотелия может быть активация другого типа рецепторов на миоцитах. В мезентериальных лимфатических сосудах овцы действие серотонина на моторику лимфангионов связано с 5-НТ₂ и 5-НТ₄ рецепторами [211]. В мезентериальных лимфатических сосудах морской свинки эффект серотонина опосредован 5-НТ₇ типом рецепторов [117].

Возможной причиной отсутствия тонических реакций является утрата морфологических контактов с эндотелиоцитами и, как следствие, потеря поток индуцированного релаксирующего влияния эндотелия. Еще одной вероятной

причиной изменения эффекта серотонина может быть отсутствие модулирующего влияния эндотелиоцитов на пейсмекерные клетки. Подобный механизм установлен в мезентериальных лимфатических сосудах морской свинки [285].

Изменение характера ответных реакций на 5-НТ в условиях удаления эндотелия свидетельствует о более высокой чувствительности к серотонину рецепторов на эндотелиоцитах.

Эффект серотонина в лимфатических сосудах связан с изменением синтеза NO эндотелиоцитами, так как использование донора оксида азота нитропруссид натрия уменьшало стимулирующее влияние серотонина. Полученные данные согласуются с результатами Chan A.K. (2002), который обнаружил, что в лимфатических сосудах морской свинки действие серотонина связано с изменением синтеза оксида азота [117].

Механизм действия серотонина в лимфатических сосудах связан с угнетением не только синтеза NO, но и такого релаксанта, как простагландины, так как в условиях действия индометацина стимулирующее влияние 5-НТ в лимфатических сосудах было снижено. Простагландиновый механизм для 5-НТ в лимфатических сосудах ранее показан не был, но в изолированных кольцах мезентериальных артерий мышей и в изолированной общей сонной артерии крысы действие серотонина осуществлялось путем изменения синтеза простагландинов [204, 244].

Резюме

1. Серотонин в концентрациях 10^{-8} – 10^{-4} М стимулирует сократительную активность лимфангионов кишечного ствола белой крысы.
2. Влияние серотонина в низких концентрациях осуществляется посредством активации специфических 5-НТ₂ рецепторов, а высоких – в результате действия на 5-НТ₂ и α_2 -адренорецепторы, которые локализируются преимущественно на эндотелиоцитах лимфатических сосудов.

3. Механизм действия серотонина в лимфатических сосудах связан со снижением синтеза NO и простагландинов.

4. Активацию сократительного аппарата серотонин осуществляет посредством увеличения концентрации внутриклеточного кальция, путем поступления иона из интерстициального пространства через потенциалзависимые кальциевые каналы L-типа и из внутриклеточных IP_3 -зависимых и рианодинзависимых источников.

5. В низких концентрациях серотонин активирует потенциалзависимые кальциевые каналы L-типа, а в более высоких концентрация дополнительно задействует IP_3 -зависимые внутриклеточные и рианодиновые депо.

Глава 5. ОТДЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ГИСТАМИНА И СЕРОТОНИНА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФАНГИОНОВ ПРИ ПЕРИТОНИТЕ, А ТАКЖЕ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ АМИКАЦИНА И ЦЕФТРИАКСОНА

5.1. Клиническая, патологоанатомическая картина перитонита и результаты вскрытия экспериментальных животных

За сутки развития перитонита стул у экспериментальных животных наблюдался в единичных случаях. После проведения срединной лапаротомии в брюшной полости обнаруживался мутный выпот. Спаечный процесс чаще всего наблюдался под печенью. В него были вовлечены печень, селезенка, толстая кишка и сальник. Реже спаечный процесс был выражен по всей брюшной полости. Желудок в условиях суточного перитонита был вздут, наблюдалось умеренное количество содержимого. Стенка тонкого кишечника была гиперемирована, с выраженным венозным рисунком. Слепая кишка не раздута, с небольшим количеством каловых масс. Толстая кишка умеренно раздута, с жидким содержимым.

Поскольку в литературе данный способ моделирования перитонита описан и доказана его состоятельность в отношении создания воспаления в брюшной полости, гистологическое подтверждение макроскопической картины не проводилось [85].

5.2. Характеристика фазной активности лимфатических сосудов при перитоните

В исследованиях использовались только лимфатические сосуды, обладающие спонтанной активностью (n=11). Во всех препаратах через 20 минут от начала эксперимента, как правило, устанавливался стабильный

тонус и регистрировалась спонтанная фазная сократительная активность со стабильными параметрами.

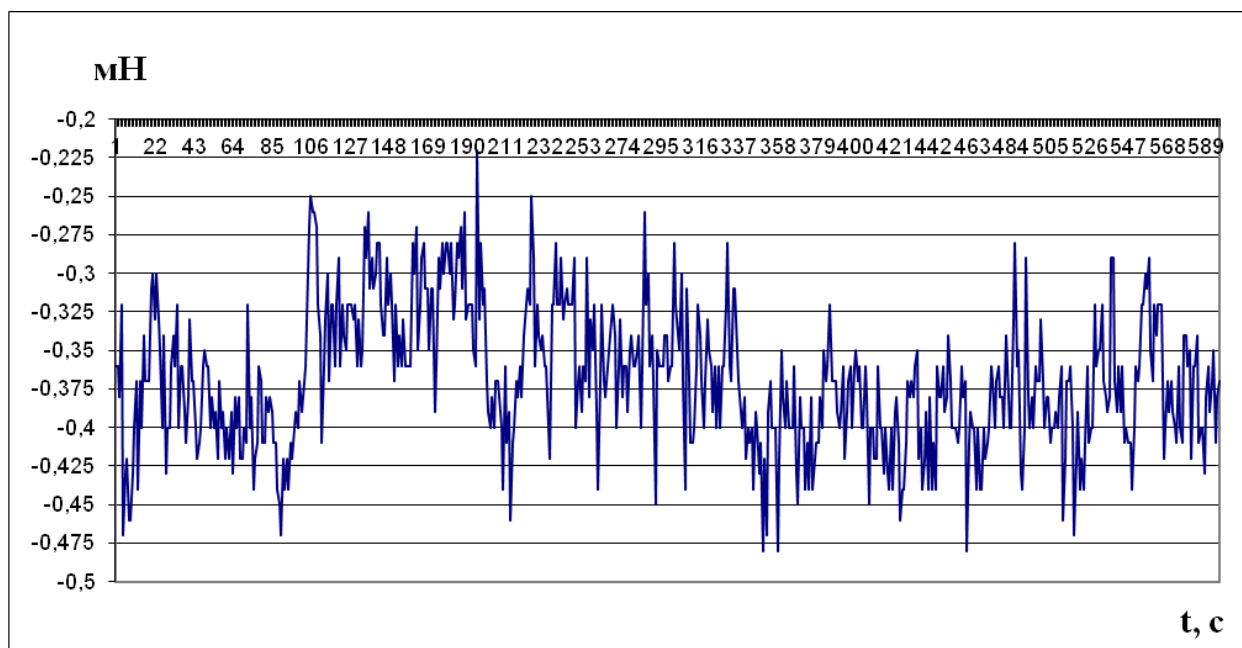


Рис. 5.1 – Фазная активность лимфангионов при перитоните

Средняя частота спонтанных фазных сокращений лимфатических сосудов при перитоните составила $10,6 \pm 1,49$ мин⁻¹ амплитуда – $90,8 \pm 9,62$ мкН, что ниже, чем параметры фазной активности интактных лимфангионов на $22 \pm 3,5\%$ и $11,9-53 \pm 5,3\%$ соответственно.

5.3. Действие гистамина на моторику интактных лимфатических сосудов и при перитоните

Для исследования состояния реактивности мезентериальных лимфатических сосудов к действию гистамина при наличии воспаления в брюшной полости была проведена серия экспериментов (n=10).

При перитоните реактивность лимфатических сосудов к гистамину сохранялась, но стимулирующее частоту и амплитуду фазной активности лимфангионов влияние гистамина в низких концентрациях (10^{-9} , 10^{-8} и 10^{-7} М) статистически значимо не проявлялось (рис. 5.2 и 5.3, табл. 15 и 16).

Гистамин в высоких концентрациях снижал частоту и амплитуду фазных сокращений лимфатических сосудов при перитоните так же как и в интактных, но влияние было менее выраженным. Частота сократительной активности лимфангионов при перитоните на фоне действия гистамина в концентрациях 10^{-6} , 10^{-5} и 10^{-4} М была ниже фоновой в среднем на 7,5%, 19,8% и 30,1%, а амплитуда – на 11,5%, 14,7% и 22,6 % соответственно (в интактных лимфангионах амплитуда одиночных сокращений снижалась в среднем на 10,6–55,8%, частота – на 25,5–56,8% по отношению к исходным величинам).

Значимых тонических реакций на действие гистамина в исследуемом диапазоне концентраций в лимфангионах при перитоните отмечено не было.

Полученные значения параметров сократительной активности лимфангионов при перитоните при действии гистамина в дальнейшем принимались в качестве контрольных значений для каждой концентрации тестируемого вещества.

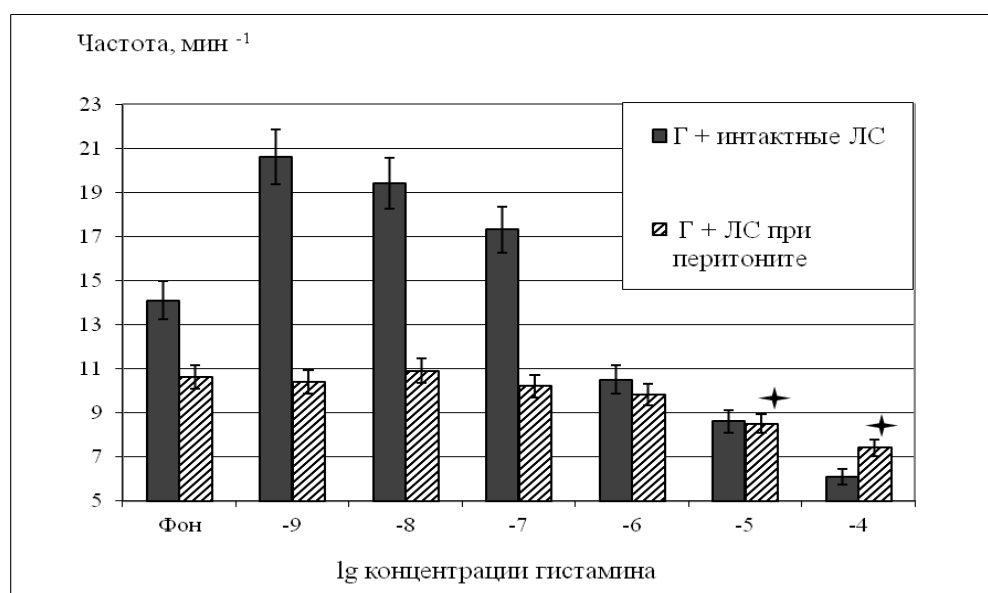


Рис.5.2 – Действие гистамина на частоту фазных сокращений лимфатических сосудов в интактных условиях и при перитоните

Примечания: 1. Г – гистамин, ЛС – лимфатические сосуды.

2. Знаком * обозначены статистически значимые различия по сравнению с фоном ($p < 0,05$).

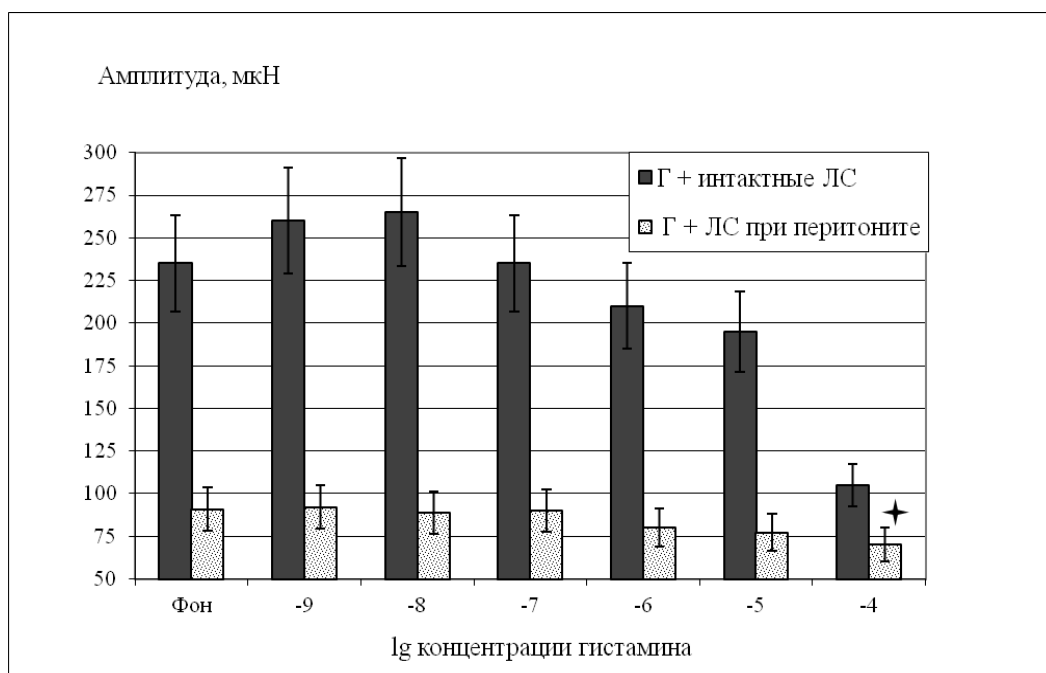


Рис. 5.3 – Действие гистамина на амплитуду фазных сокращений лимфатических сосудов в интактных условиях и при перитоните
Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 5.2.

Таблица 15

Действие гистамина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов и при перитоните

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г+инт.							
ЛС	14,1±2,1	20,6±1,8	19,4±2,01	17,3±1,4	10,5±1,1	8,6±1,2	6,1±1,8
Г+П	10,6±2,1	10,4±2,3	10,9±2,5	10,2±1,9	9,8±1,1	8,5±1,1	7,4±1,7

Примечание. Г – гистамин, инт. - интактные, ЛС – лимфатические сосуды, П – перитонит.

Действие гистамина на амплитуду (мкН) сократительной активности
интактных лимфатических сосудов и при перитоните

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г+ инт.							
ЛС	235±1,1	260±5,1	265±8,04	235±3,9	210±3,6	195±1,0	105±4,6
Г+ П	90,8±2,0	92,3±6,2	89±6,8	90±3,9	80,3±2,4	77,4±4,6	70,2±3,8

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 15.

5.4 . Действие серотонина на моторику интактных лимфатических
сосудов и при перитоните

Для исследования реактивности мезентериальных лимфатических сосудов к действию серотонина при наличии воспаления в брюшной полости была проведена серия экспериментов (n=10).

При перитоните реактивность лимфатических сосудов к серотонину сохранялась. Статистически значимое увеличение амплитуды фазных сокращений вызывал только 5-НТ в концентрации 10^{-8} М – прирост составил 25,7 % (рис. 5.4 и 5.5, табл. 17 и 18). Дальнейшее увеличение концентрации серотонина от 10^{-7} до 10^{-5} М приводило к снижению амплитуды фазных сокращений на 3,2-5,6%. Действие 5-НТ во всем диапазоне исследуемых концентраций вызывало снижение частоты фазных сокращений лимфатических сосудов при перитоните в среднем на 12,24% по отношению к фоновому значению без корреляции с концентрацией вещества. Серотонин в условиях перитонита не вызывал в лимфангионах статистически значимых тонических реакций.

Значения параметров сократительной активности лимфангионов при перитоните при действии 5-НТ в дальнейшем принимались в качестве контрольных значений для каждой концентрации тестируемого вещества.

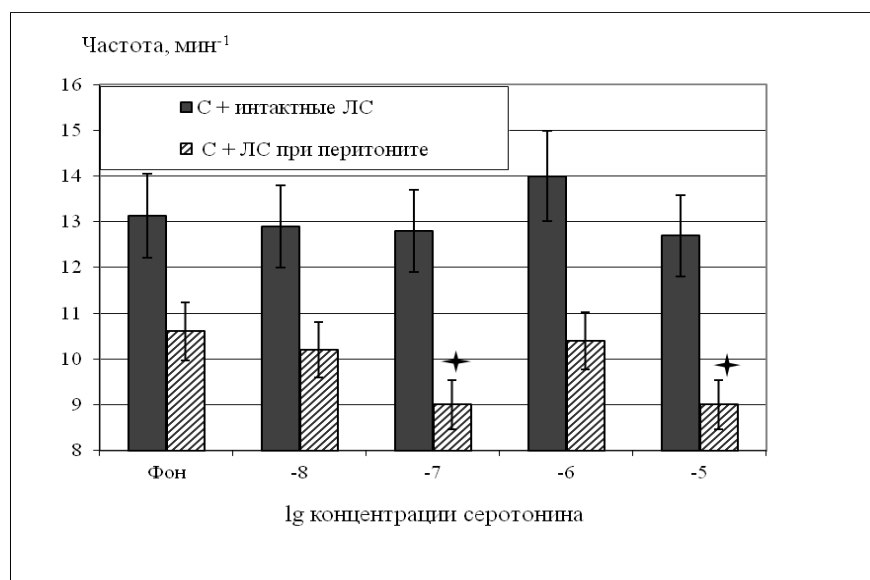


Рис. 5.4 – Сравнительное действие серотонина на частоту сократительной активности intactных лимфангионов и лимфатических сосудов при перитоните

Примечания: 1. Знаком \star обозначены статистически значимые различия по сравнению с фоновой активностью ($p < 0,05$).

2. С - серотонин, ЛС – лимфатические сосуды.

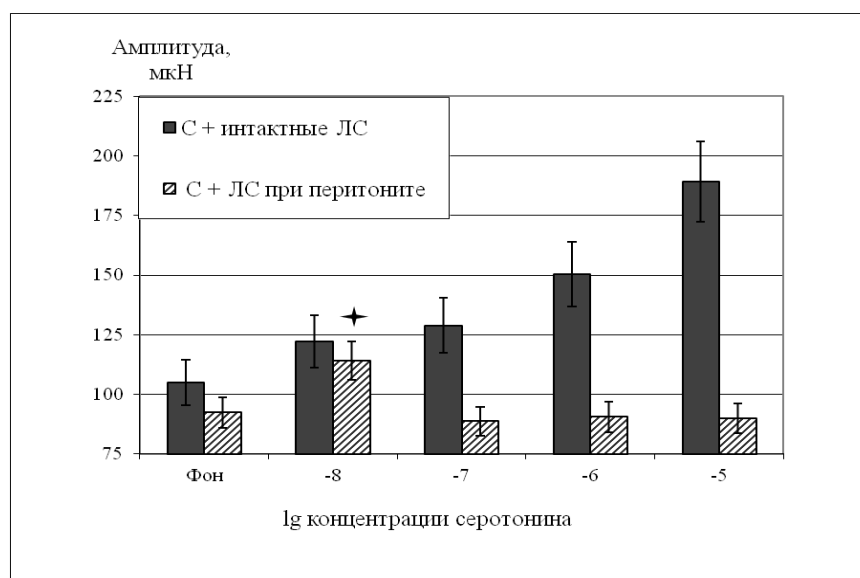


Рис. 5.5 – Сравнительное действие серотонина на амплитуду сократительной активности intactных лимфангионов и лимфатических сосудов после перитонита

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 5.4.

Таблица 17

Действие серотонина на амплитуду (мкН) сократительной активности интактных лимфатических сосудов и при перитоните

		Значения lg концентрации серотонина				
	Фон	-8	-7	-6	-5	-4
С+инт.						
ЛС	103,1,1±4,5	121,4±4,8	129,4±4,1	145,1±9,7	189,6±8,7	179,7±8,4
С+П	92,4±2,9	114,1±3,9	88,6±3,5	90,5±5,2	89,9±5,7	92,4±4,2

Примечание. С – серотонин, инт. – интактные, ЛС – лимфатические сосуды, П – перитонит.

Таблица 18

Действие серотонина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности интактных лимфатических сосудов и при перитоните

		Значения lg концентрации серотонина				
	Фон	-8	-7	-6	-5	-4
С+инт. ЛС	13,1±2,1	12,9±2,2	12,4±1,7	14,1±1,6	12,9±1,9	12,5±1,9
С+ П	10,6±1,3	10,2±1,4	9±0,93	10,4±1,07	9±1,4	10,6±1,3

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 17.

5.5. Действие амикацина на моторику интактных лимфатических сосудов и при перитоните

Для изучения влияния амикацина в интактных лимфатических сосудах была проведена серия экспериментов ($n=10$).

Амикацин в низких концентрациях (0,0015 и 0,005 мг/мл) стимулировал фазную активность лимфангионов. Наблюдалось увеличение амплитуды фазных сокращений в среднем на 9,3% по отношению к исходному уровню и стойкое обратимое повышение тонуса лимфангионов на

0,3-0,45 мН по отношению к исходному уровню (рис. 5.7, табл. 20). Статистически значимых изменений частоты фазных сокращений лимфатических сосудов амикацин в исследуемых низких концентрациях не вызывал (рис. 5.6, табл. 19).

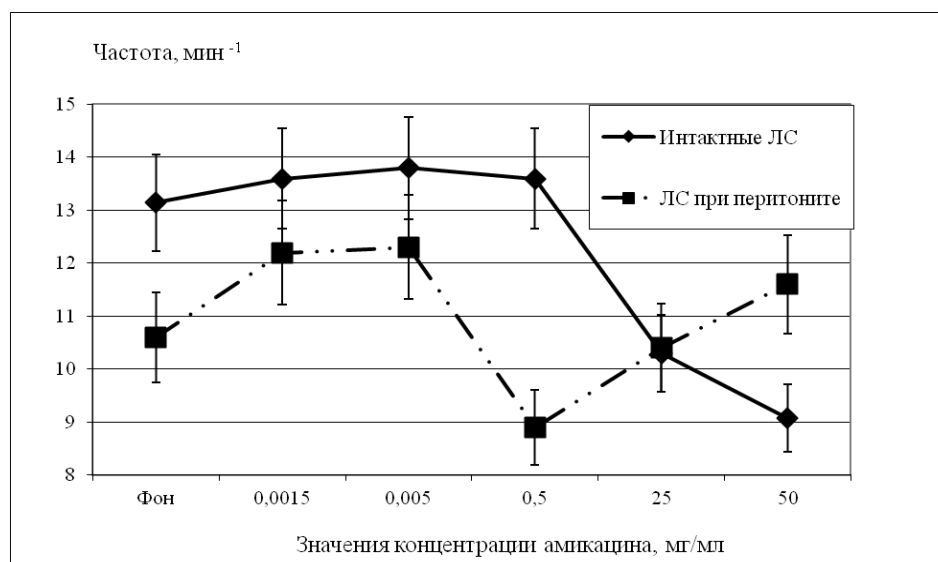


Рис. 5.6 – Действие амикацина на частоту фазных сокращений интактных лимфангионов и лимфатических сосудов после перитонита.

Примечание. ЛС – лимфатические сосуды.

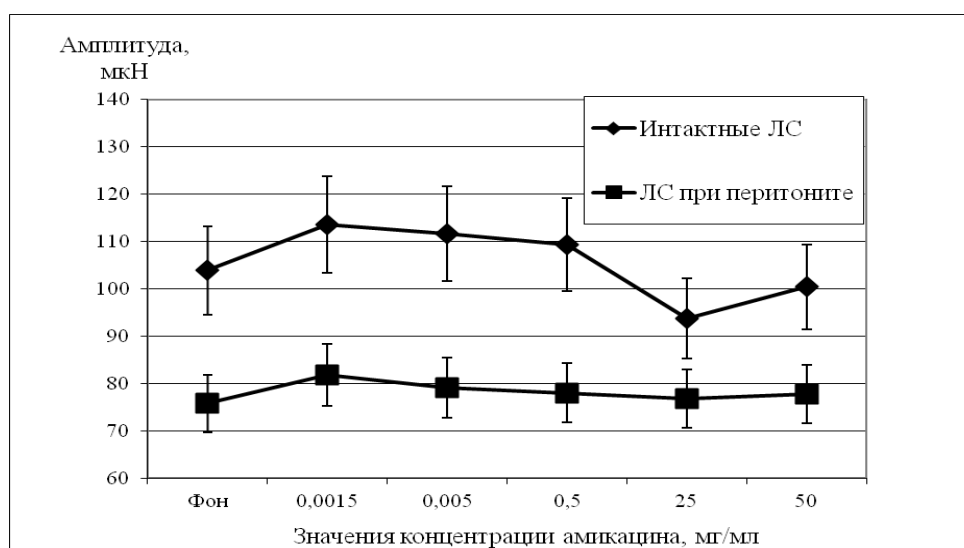


Рис. 5.7 – Действие амикацина на амплитуду фазных сокращений интактных лимфангионов и лимфатических сосудов после перитонита

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 5.6.

Таблица 19

Действие амикацина на частоту (мин^{-1}) сокращений интактных лимфангионов и при перитоните

		Значение концентрации амикацина				
	Фон	0,0015	0,005	0,5	25	50
Инт. ЛС	13,14±0,9	13,6±0,8	13,8±0,9	13,6±0,7	10,3±0,7	9,07±0,6
ЛС +П	10,6±0,8	12,2±0,9	12,3±0,6	8,9±0,8	10,4±0,9	11,6±0,7

Примечание. ЛС – лимфатические сосуды, Инт. – интактные, П – перитонит.

Таблица 20

Действие амикацина на амплитуду (мкН) сокращений интактных лимфангионов и при перитоните

		Значение концентрации амикацина				
	Фон	0,0015	0,005	0,5	25	50
Инт. ЛС	103,9±9,3	113,5±10,2	111,7±10,1	109,3±9,8	93,7±8,4	100,4±9,0
ЛС +П	75,8±6,1	81,9±6,5	79,1±6,3	78±6,2	76,9±6,1	77,8±6,2

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 19.

Антибиотик амикацин в высоких концентрациях ингибировал фазную активность лимфангионов. Амикацин в концентрациях 25 и 50 мг/мл вызывал снижение частоты фазных сокращений по отношению к фону в среднем на 21,6% и 30,9% соответственно. Снижение амплитуды фазных сокращений составило максимально 90,2% от фонового уровня ($p < 0,5$). Наблюдалось стойкое повышение тонуса на 0,30–0,35 мН по отношению к исходному уровню.

Для изучения влияния амикацина на лимфатические сосуды при перитоните была выполнена серия экспериментов ($n=10$).

Реактивность лимфатических сосудов к амикацину при перитоните изменялась. Действие амикацина в низких концентрациях на моторику лимфангиона при перитоните было двухфазным. Антибиотик в

концентрациях 0,0015 и 0,005 мг/мл стимулировал частоту фазных сокращений лимфангионов на 15,5-16,5% (рис. 5.6, табл. 19). Увеличение концентрации антибиотика до 0,05 мг/мл приводило к снижению частоты фазных сокращений на 16,4% по отношению к фоновой. Весь диапазон антибиотика в низких концентрациях не вызывал статистически достоверных изменений амплитуды фазных сокращений и тонических реакций у лимфангионов при перитоните (рис. 5.7, табл. 20).

Применение амикацина в высоких концентрациях (25 и 50 мг/мл) вызывало увеличение частоты фазных сокращений, которое было максимальным при действии амикацина в концентрации 50 мг/мл и составило 109,1% от исходного значения соответственно ($p < 0,5$). Статистически значимых изменений амплитуды лимфангионов при перитоните антибиотик в высоких концентрациях не вызывал. Только амикацин в концентрации 50 мг/мл приводил к снижению тонуса лимфатических сосудов в среднем на 0,25–0,3 мН.

5.6. Действие цефтриаксона на моторику интактных лимфатических сосудов и при перитоните

Для изучения влияния цефтриаксона на спонтанную активность интактных лимфатических сосудов была проведена серия экспериментов ($n=10$).

Цефтриаксон в низких концентрациях (0,0024, 0,008 и 0,024 мг/мл) в интактных лимфатических сосудах вызывал уменьшение частоты фазных сокращений в среднем на 12,5%, 7,8% и 6,0% от исходного уровня соответственно (рис. 5.8, табл. 21). Наблюдалось повышение амплитуды фазных сокращений, но без проявления отчетливой дозозависимости (рис. 5.9, табл. 22). Максимальное увеличение амплитуды отмечалось в ответ на действие цефтриаксона в концентрации 0,008 мг/мл и составило на 121,6% от исходного уровня. Тонус интактных лимфангионов под действием

цефтриаксона в низких концентрациях не изменялся или снижался на 0,1–0,15 мН.

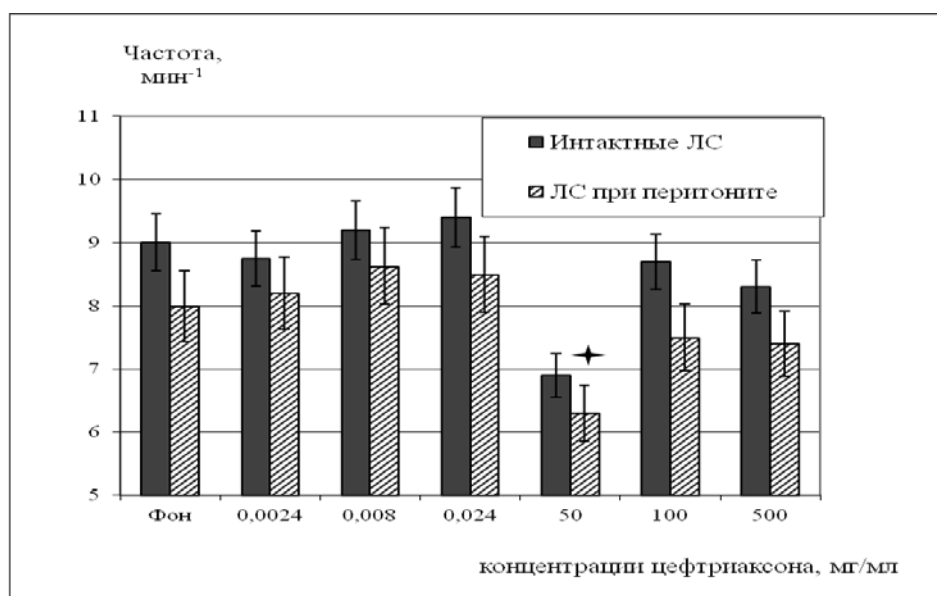


Рис. 5.8 – Действие цефтриаксона на частоту фазных сокращений интактных лимфангионов и лимфатических сосудов при перитоните

Примечание. Знаком \star обозначены статистически значимые различия по сравнению с фоновой активностью ($p < 0,05$).

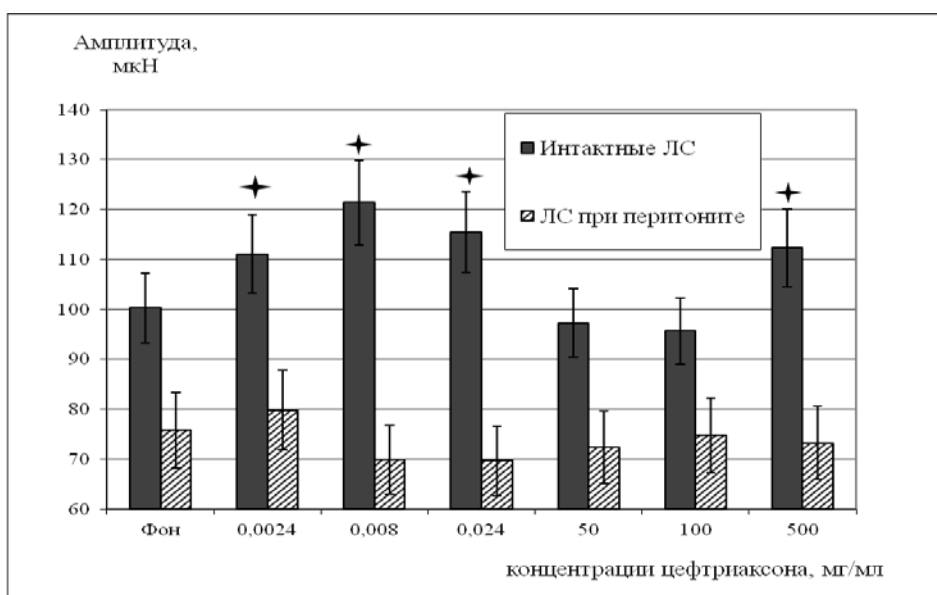


Рис. 5.9 – Действие цефтриаксона на амплитуду фазных сокращений интактных лимфангионов и лимфатических сосудов при перитоните

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 5.8.

Таблица 21

Действие цефтриаксона на частоту (мин^{-1}) сокращений интактных лимфангионов и при перитоните

	Фон	Значение концентрации цефтриаксона (мг/мл)					
		0,0024	0,008	0,024	50	100	500
Инт. ЛС	10±0,5	8,75±0,4	9,2±0,5	9,4±0,4	6,9±0,3	8,7±0,4	8,3±0,4
ЛС+П	8±0,6	8,2±0,5	8,63±0,6	8,5±0,5	6,3±0,4	7,5±0,5	7,4±0,5

Примечание. ЛС – лимфатические сосуды, инт. – интактные, П – перитонит.

Таблица 22

Действие цефтриаксона на амплитуду (мкН) сокращений интактных лимфангионов и после перитонита

	Фон	Значение концентрации цефтриаксона (мг/мл)					
		0,0024	0,008	0,024	50	100	500
Инт.	100,3±	111,1±	121,4±	115,5±	97,3±	95,7±	112,3±
ЛС	7,0	7,7	8,4	8,1	6,8	6,6	7,8
ЛС+П	75,8±7,5	79,8±7,9	69,9±7,2	69,7±7,2	72,3±7,4	74,8±6,8	73,2±6,9

Примечание. ЛС – лимфатические сосуды, инт. – интактные, П – перитонит.

Действие антибиотика в высоких концентрациях (50, 100 и 500 мг/мл) также не было дозозависимым. Цефтриаксон в концентрациях 50 и 100 мг/мл вызывал снижение частоты фазных сокращений в среднем на 30,9 и 13,4% соответственно, при этом амплитуда фазных сокращений лимфатических статистически значимо не изменялась. В максимальной из исследуемых концентраций (500 мг/мл) цефтриаксон увеличивал амплитуду фазных сокращений в среднем на 12,1%, но без значимых изменений частоты фазных сокращений.

Тонус интактных лимфангионов при действии всего диапазона концентраций цефтриаксона не изменялся или незначительно снижался (на 0,1 – 0,15 мН).

Для изучения влияния цефтриаксона на лимфатические сосуды при перитоните была выполнена серия экспериментов (n=10).

Цефтриаксон в низких и высоких концентрациях при перитоните не вызывал статистически значимых изменений фазных сокращений лимфатических сосудов (рис. 5.8 и 5.9, табл. 21 и 22). Только использование цефтриаксона в концентрации 50 мг/мл приводило к значимому снижению частоты фазных сокращений, величина которого составила 77,9% от исходного значения ($p < 0,05$).

Весь диапазон исследуемых концентраций цефтриаксона в условиях перитонита вызывал не дозозависимое повышение тонуса лимфангионов на 0,1–0,5 мН.

5.7. Действие гистамина на моторику лимфатических сосудов при перитоните в условиях применения амикацина

Для изучения влияния гистамина на спонтанную фазную сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните в условиях действия амикацина в высоких и низких концентрациях была выполнена серия экспериментов (n=10).

Характер ответных реакций лимфатических сосудов на действие гистамина при перитоните в условиях влияния амикацина в низких концентрациях в большинстве экспериментов статистически значимо не отличался от такового при отдельном применении гистамина во всем исследуемом диапазоне концентраций (10^{-9} – 10^{-4} М) (табл. 23 и 24, рис. 5.10 и 5.11).

В условиях применения амикацина в высоких концентрациях – 25 и 50 мг/мл – действие гистамина в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-7} М) в лимфатических сосудах при перитоните статистически значимо от полученного при отдельном влиянии вещества не отличалось. Ингибирующее фазную активность влияние гистамина в высоких

концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} М) незначительно снижалось. Значение частоты фазных сокращений при действии гистамина в концентрации 10^{-5} М в условиях влияния амикацина в высоких концентрациях не отличалось от фонового. Действие гистамина в концентрации 10^{-4} М в этих условиях привело к менее выраженному снижению частоты фазных сокращений, которое составило 81,3 % от фонового уровня (в контроле – 69,8%). Статистически значимых тонических реакций отмечено не было.

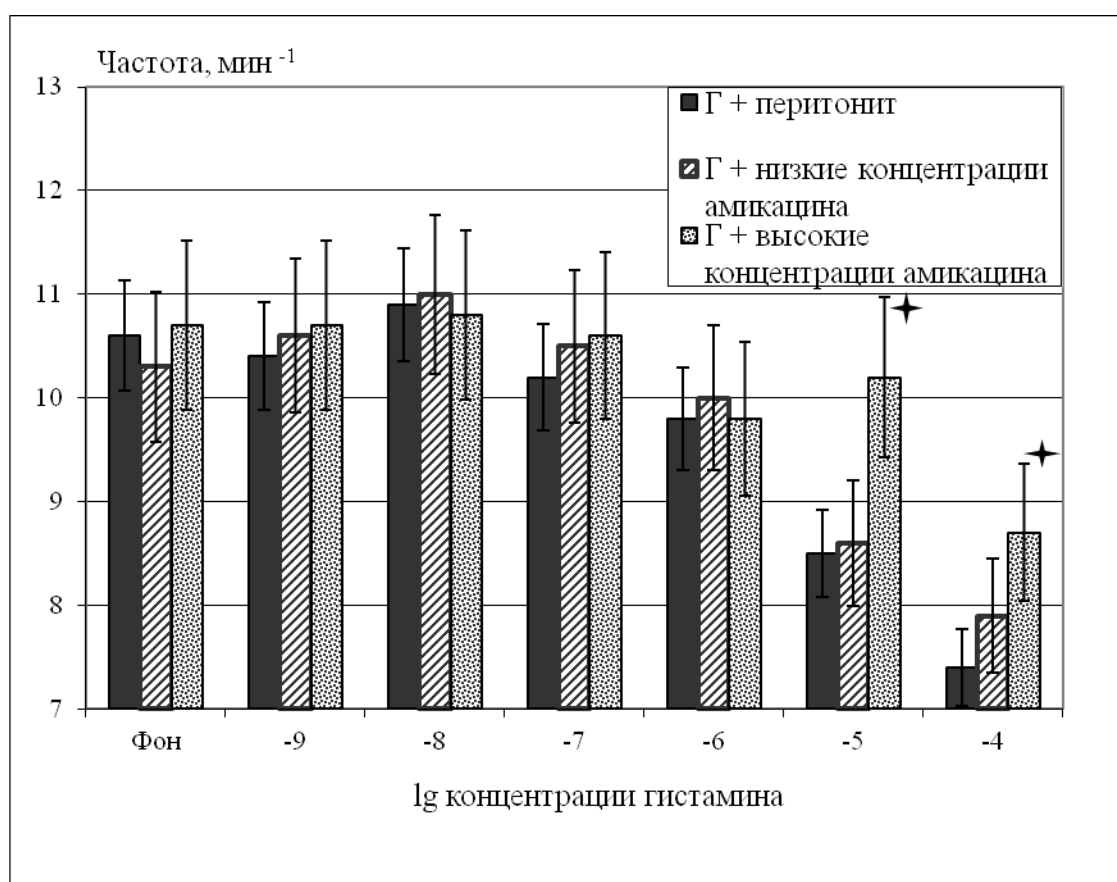


Рис. 5.10 – Отдельное влияние гистамина на частоту сократительной активности лимфангионов при перитоните и в условиях действия амикацина в высоких и низких концентрациях

Примечания: 1. Г – гистамин.

2. Знаком ★ обозначены статистически значимые различия по сравнению с отдельным применением вещества ($p < 0,05$).

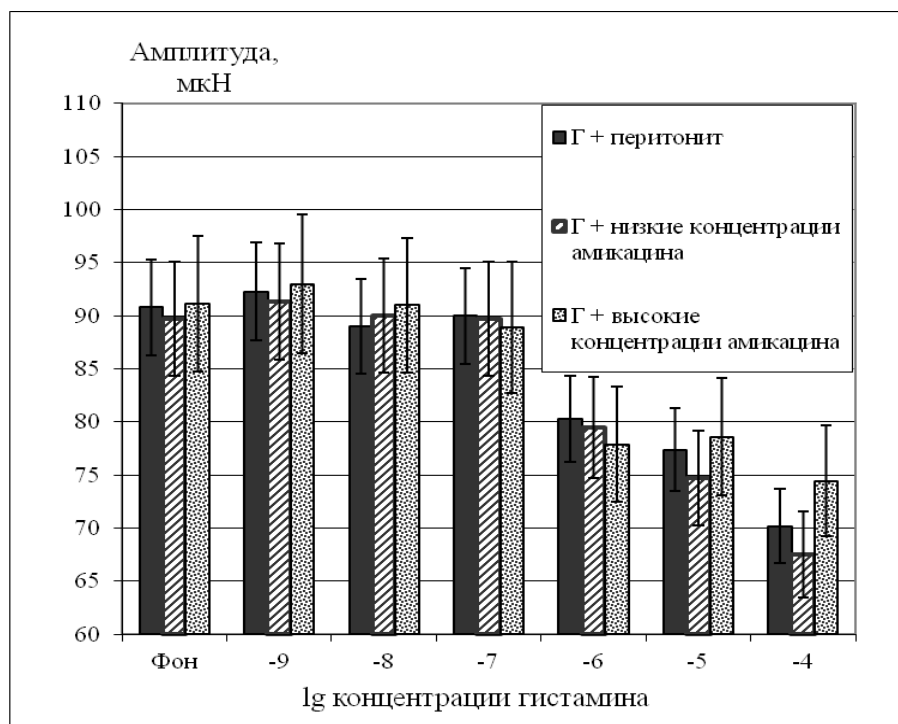


Рис. 5.11 – Отдельное влияние гистамина на амплитуду сократительной активности лимфангионов при перитоните и в условиях действия ампицилина в высоких и низких концентрациях

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 5.10.

Таблица 23

Влияние гистамина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности лимфангионов при перитоните в условиях действия ампицилина в высоких и низких концентрациях

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г+П	10,6±2,1	10,4±2,3	10,9±2,5	10,2±1,9	9,8±1,1	8,5±1,1	7,4±1,7
Г+П+ н/к А	10,3±0,5	10,6±0,5	11±0,6	10,5±0,5	10±0,4	8,6±0,3	7,9±0,3
Г+П+ в/к А	10,7±0,5	10,7±0,47	10,8±0,6	10,6±0,5	9,8±0,4	10,2±0,5	8,7±0,3

Примечание. Г – гистамин, н/к – низкие концентрации, в/к – высокие концентрации, А – ампицин, П – перитонит.

Влияние гистамина на амплитуду (мкН) сократительной активности
лимфангионов в условиях действия амикацина в высоких и низких
концентрациях

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г+П	90,8±2,0	92,3±6,2	89±6,8	90±3,9	80,3±2,4	77,4±4,6	70,2±3,8
Г+П+ н/к А	89,7±5,3	91,3±5,4	90±5,4	89,7±5,3	79,5±4,7	74,7±4,7	67,5±4,1
Г+П+ в/к А	91,1±6,3	93±6,5	91±6,3	88,9±6,2	77,9±5,3	78,6±5,4	74,4±5,2

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 23.

5.8. Действие серотонина на моторику лимфатических сосудов при
перитоните в условиях применения амикацина

Для изучения влияния серотонина на спонтанную фазную сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните в условиях действия амикацина в высоких и низких концентрациях была выполнена серия экспериментов (n=10).

Ингибирующий эффект серотонина на лимфангионы при перитоните в условиях действия амикацина в низких концентрациях был менее выражен по сравнению с контролем (см. рис. 5.12 и 5.13). Частота фазных сокращений лимфатических сосудов на фоне перитонита в данных условиях снижалась в меньшей степени по отношению к отдельному применению и составила для серотонина в концентрациях 10^{-7} и 10^{-5} М – 94,2% и 96,2% соответственно (в контроле – 84,9% и 84,8% соответственно) (см. табл. 25). Значения амплитуды фазных сокращений статистически значимо не отличались от зарегистрированных в контроле (см. табл. 26). Наблюдалось обратимое повышение тонуса на $0,1 \pm 0,05$ мН.

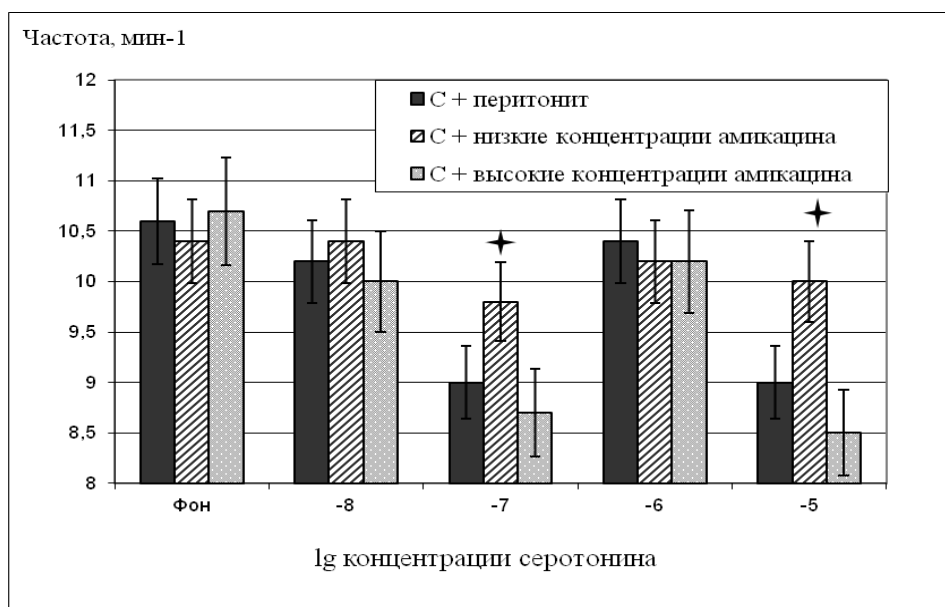


Рис. 5.12 – Отдельное влияние серотонина на частоту сократительной активности лимфангионов при перитоните и в условиях действия ампицилина в высоких и низких концентрациях

Примечания: 1. С – серотонин.

2. Знаком \star обозначены статистически значимые различия по сравнению с отдельным применением вещества ($p < 0,05$).

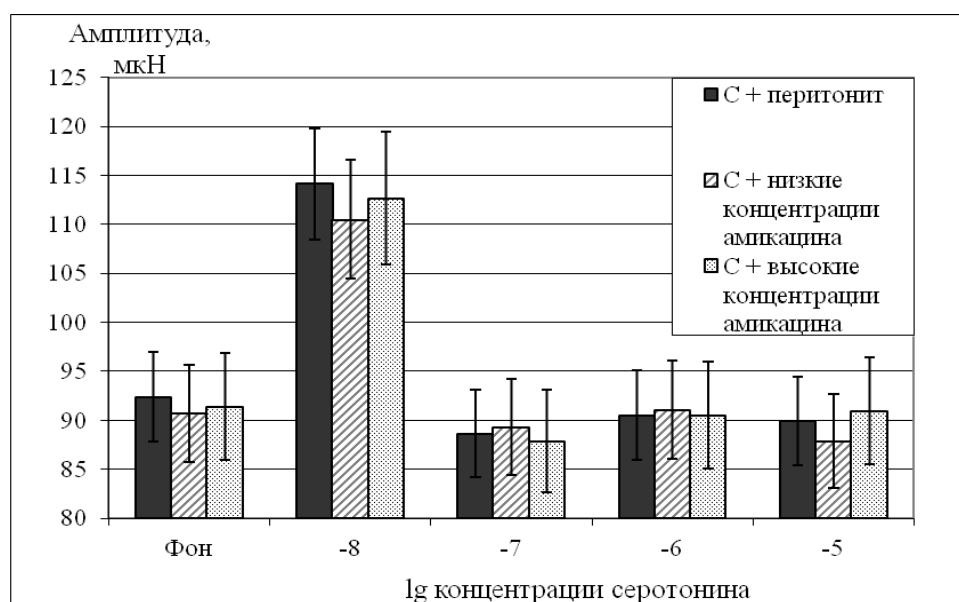


Рис. 5.13 – Отдельное влияние серотонина на амплитуду сократительной активности лимфангионов после перитонита и в условиях действия ампицилина в высоких и низких концентрациях

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 5.12.

Таблица 25

Влияние серотонина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности лимфангионов при перитоните в условиях действия амикацина в высоких и низких концентрациях

		Значения lg концентрации серотонина			
	Фон	-8	-7	-6	-5
С+ П	10,6±1,3	10,2±1,4	9±0,93	10,4±1,07	9±1,4
С+П+					
н/к А	10,4±0,6	10,4±0,5	9,8±0,6	10,2±0,5	10±0,4
С+П+					
в/к А	10,7±0,5	10±0,6	8,7±0,4	10,2±0,5	8,5±0,47

Примечания: С – серотонин, н/к – низкие концентрации, в/к – высокие концентрации, А – амикацин, П – перитонит.

Таблица 26

Влияние серотонина на амплитуду ($\mu\text{кН}$) сократительной активности лимфангионов при перитоните в условиях действия амикацина в высоких и низких концентрациях

		Значения lg концентрации серотонина			
	Фон	-8	-7	-6	-5
С+ П	92,4±2,9	114,1±3,9	88,6±3,5	90,5±5,2	89,9±5,7
С+ П +					
н/к А	90,7±5,3	110,5±5,8	89,3±6,2	91,1±4,4	87,9±4,5
С+ П +					
в/к А	91,4±6,7	112,7±5,9	87,9±6,02	90,5±5,6	91±4,9

Примечание. Обозначения такие же, как и в табл. 25.

Применение серотонина во всем диапазоне исследуемых концентраций в условиях влияния высоких концентраций амикацина не вызывало

значимых отличий в характере ответных реакций лимфатических сосудов после перитонита от полученных при отдельном применении 5-НТ.

5.9. Действие гистамина на моторику лимфатических сосудов при перитоните в условиях применения цефтриаксона

Для изучения действия гистамина на спонтанную фазную сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях была выполнена серия экспериментов (n=10).

Действие гистамина во всем исследуемом диапазоне концентраций на фазную активность лимфатических сосудов при перитоните в условиях применения цефтриаксона в низких и высоких концентрациях статистически значимо не изменялось (рис. 5.14 и 5.15, табл. 27 и 28). Наблюдалось не дозозависимое повышение тонуса, которое составило 0,3-0,35 мН по отношению к фоновому уровню.

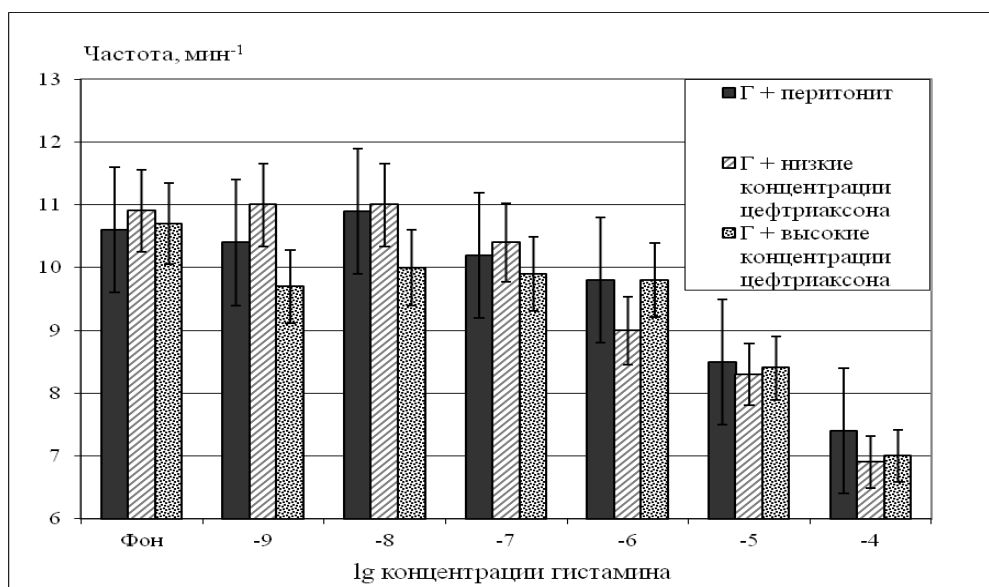


Рис.5.14 – Отдельное влияние гистамина на частоту сократительной активности лимфангионов при перитоните и в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях

Примечание. Г – гистамин, Ц – цефтриаксон.

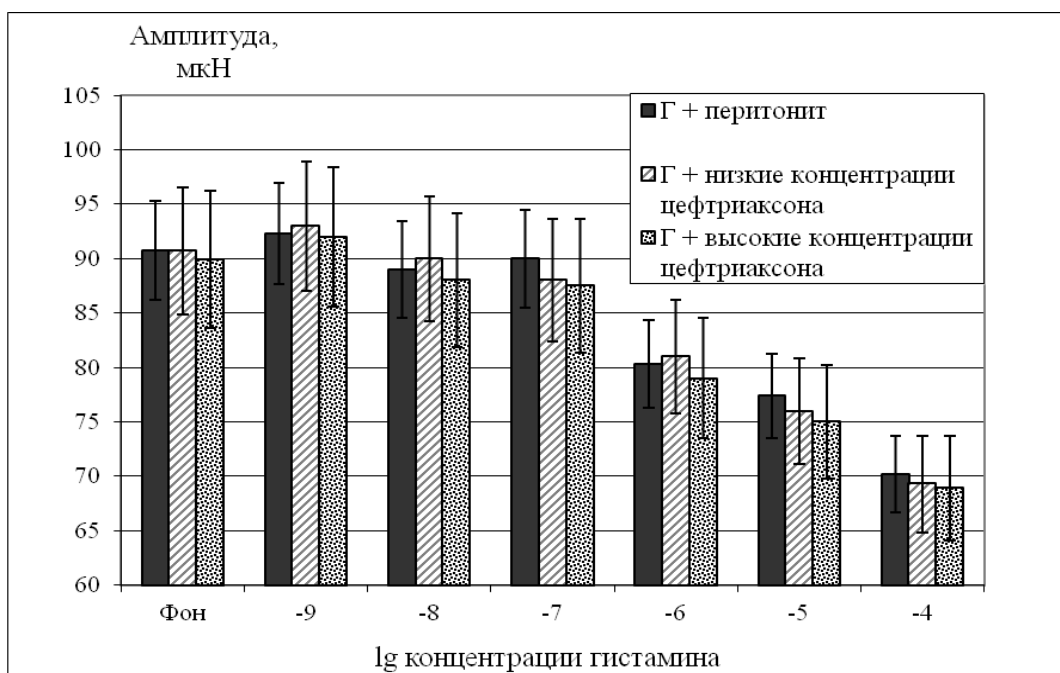


Рис. 5.15 – Отдельное влияние гистамина на амплитуду сократительной активности лимфангионов при перитоните и в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 5.14.

Таблица 27

Влияние гистамина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности лимфангионов при перитоните в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г+П	10,6±2,1	10,4±2,3	10,9±2,5	10,2±1,9	9,8±1,1	8,5±1,1	7,4±1,7
Г+П+ н/к Ц	10,9±5,5	11,4±6,5	11,9±5,9	10,4±4,7	9,3±5,3	8,5±4,7	6,9±4,3
Г+П+ в/к Ц	10,7±0,5	9,7±0,6	10,0±0,6	9,9±0,5	8,4±0,47	8,3±0,5	7,0±0,3

Примечание. Г – гистамин, н/к – низкие концентрации, в/к – высокие концентрации, Ц – цефтриаксон.

Влияние гистамина на амплитуду (мкН) сократительной активности лимфангионов при перитоните в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях

		Значения lg концентрации гистамина					
	Фон	-9	-8	-7	-6	-5	-4
Г+П	90,8±2,0	92,3±6,2	89±6,8	90±3,9	80,3±2,4	77,4±4,6	70,2±3,8
Г+П+							
н/к Ц	90,7±5,9	93±5,7	90±5,6	88±5,2	81±4,8	76±4,4	69,3±4,9
Г+П+							
в/к Ц	89,9±6,4	92±6,2	88±6,1	87,5±5,5	79±5,2	75±4,8	68,9±4,9

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 27.

5.10 . Действие серотонина на моторику лимфатических сосудов при перитоните в условиях применения цефтриаксона

Для изучения действия серотонина на спонтанную фазную сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните в условиях действия высоких и низких концентраций цефтриаксона была выполнена серия экспериментов (n=10).

Эффект серотонина на сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните во всем исследуемом диапазоне концентраций в условиях действия низких и высоких концентраций цефтриаксона статистически значимо отличался от полученного в контроле (рис. 5.16 и 5.17, табл. 29 и 30).

Действие всего диапазона исследуемых концентраций серотонина в условиях влияния цефтриаксона в высоких и низких концентрациях приводило к не дозозависимому повышению тонуса лимфангионов на 0,1–0,2 мН.

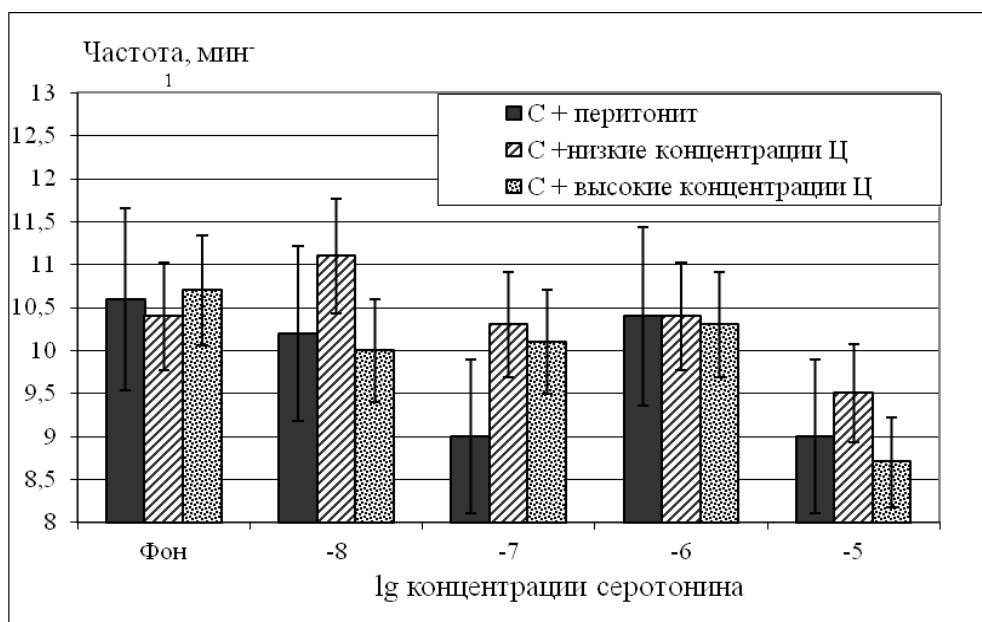


Рис. 5.16 – Отдельное влияние серотонина на частоту сократительной активности лимфангионов при перитоните и в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях

Примечания: 1. С – серотонин, Ц – цефтриаксон.

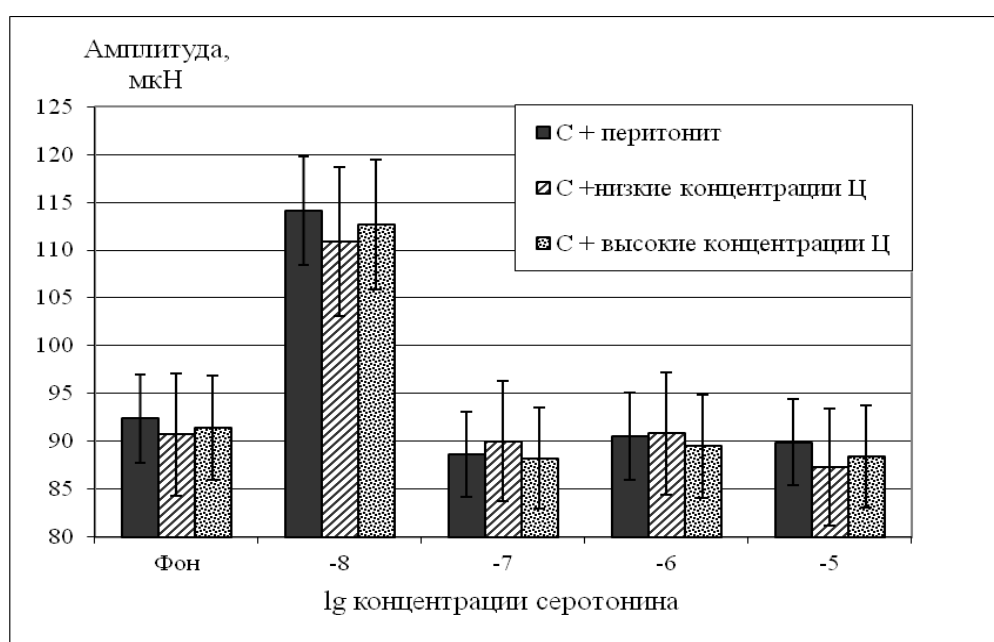


Рис. 5.17 – Отдельное влияние серотонина на амплитуду сократительной активности лимфангионов при перитоните и в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях

Примечание. Обозначения те же, что и на рис. 5.16.

Таблица 29

Влияние серотонина на частоту (мин^{-1}) сократительной активности лимфангионов при перитоните в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях

		Значения lg концентрации серотонина			
	Фон	-8	-7	-6	-5
С+ П	10,6±1,3	10,2±1,4	9±0,93	10,4±1,07	9±1,4
С+П+					
н/к Ц	10,4±0,4	11,1±0,6	10,3±0,5	10,4±0,4	9,5±0,5
С+П+					
в/к Ц	10,7±0,6	10±0,5	10,1±0,7	10,3±0,5	8,7±0,6

Примечание. С – серотонин, н/к – низкие концентрации, в/к – высокие концентрации, Ц – цефтриаксон.

Таблица 30

Влияние серотонина на амплитуду ($\mu\text{кН}$) сократительной активности лимфангионов при перитоните в условиях действия цефтриаксона в высоких и низких концентрациях

		Значения lg концентрации серотонина			
	Фон	-8	-7	-6	-5
С+ П	92,4±2,9	114,1±3,9	88,6±3,5	90,5±5,2	89,9±5,7
С+П+					
н/к Ц	90,7±4,9	110,9±6,1	90±5,1	90,8±4,8	87,3±4,7
С+П+					
в/к Ц	91,4±6,3	112,7±7,8	88,2±6,1	89,5±6,2	88,4±6,2

Примечание. Обозначения те же, что и в табл. 29.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При перитоните наблюдается снижение параметров фоновой фазной активности лимфатических сосудов по сравнению с интактными. Угнетение фоновой фазной активности лимфатических сосудов при перитоните частично связано с морфологическими изменениями стенки сосуда, что подтверждается патологоанатомической картиной вскрытия и результатами гистологических исследований [26, 85, 256]. Еще одной возможной причиной снижения параметров спонтанной фазной активности лимфангионов может быть угнетение электрической активности пейсмекерных клеток гистамином, выделившимся в результате дегрануляции тучных клеток при воспалении [237].

Влияние гистамина на сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните отличается от такового в интактных лимфангионах. Положительное хронотропное и инотропное влияние гистамина в низких концентрациях не проявляется, ингибирующее частоту и амплитуду фазных сокращений действие вещества в высоких концентрациях сохраняется, но становится менее выраженным.

Ингибирование фазной активности лимфангионов гистамином осуществляется через эндотелиальные клетки. Снижение эндотелийзависимого компонента реакции лимфатического сосуда на действие гистамина при перитоните, по-видимому, частично связано с изменением характера синтетических процессов в эндотелиоцитах при воспалении, которое ранее отмечалось другими исследователями [78]. Учитывая, что у гистамина в низких концентрациях преобладает хронотропное влияние, также можно предположить, что при перитоните происходит снижение реактивности пейсмекерных клеток к тестируемому веществу [239]. Подобный факт исследователями ранее не отмечался.

Действие серотонина на сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните также отличалась от такового в интактных

лимфатических сосудах. Положительное инотропное влияние серотонина, наблюдавшееся в интактных лимфатических сосудах, при перитоните присутствовало только в ответ на действие вещества в концентрации 10^{-8} М. 5-НТ в более высоких концентрациях ингибировал сократительную активность лимфангионов. Возможной причиной такой реакции лимфатических сосудов на серотонин при перитоните может быть снижение чувствительности 5-НТ₂ и α_2 -адренорецепторов, что приводит к активации специфических рецепторов 5-НТ₄ или 5-НТ₇ типа, наличие которых показано ранее в лимфатических сосудах овцы и морской свинки [117, 211]. Действие серотонина на 5-НТ₄ или 5-НТ₇ типы рецепторов приводит к угнетению фазной активности лимфатических сосудов. Снижение характерного для серотонина положительного инотропного влияния на исследуемый объект может быть также следствием изменения синтетических процессов в эндотелиоцитах, что подтверждается показанным в 4 главе оригинальных исследований отсутствием стимулирующего влияния 5-НТ при удалении эндотелия.

Еще одной причиной изменения ответной реакции лимфатических сосудов в условиях перитонита на серотонин может быть повышение эндолимфатического давления, которое влияет на чувствительность лимфангионов к 5-НТ [41]. В результате увеличения эндолимфатического давления, происходит снижение выделения вазодилататоров и уменьшение эндотелийзависимого компонента механизмов действия гистамина и серотонина в лимфатических сосудах.

Полученные результаты требуют дальнейшего исследования механизмов действия гистамина и серотонина в лимфатических сосудах при перитоните.

Изучение действия антибактериальных препаратов на лимфангионы показало, что их влияние не отличается линейной дозозависимостью и имеет различный характер в интактных лимфатических сосудах и объектах после перитонита.

Интakтные лимфатические сосуды реагировали на действие амикацина и цефтриаксона как усилением, так и снижением фазной активности. Действие антибактериальных препаратов в низких концентрациях проявляло в большей степени стимулирующее влияние, в то время как в высоких концентрациях антибиотики вызывали угнетение моторики лимфангионов. В литературе ранее присутствовали данные только об ингибирующей сократительную активность лимфатических сосудов влиянии антибактериальных препаратов [3, 33]. Возможной причиной расхождения данных может быть использование исследователями антибиотиков только в высоких концентрациях.

Механизмы столь различных реакций лимфатических сосудов на действие антибиотиков требуют дополнительного исследования.

По-видимому, антибактериальные препараты, используемые для терапии перитонита, благодаря не однонаправленному влиянию могут, ингибируя сократительную активность лимфатических сосудов в месте введения санировать очаг воспаления, затем, когда в результате диффузии концентрация препарата становится ниже, насыщать лимфатическую систему для санации других очагов воспаления.

Выявлено, что современные антибактериальные препараты по-разному влияют на чувствительность лимфатических сосудов в условиях перитонита к биогенным аминам.

Действие амикацина в высоких концентрациях незначительно уменьшало ингибирующее влияние гистамина в высоких концентрациях. Амикацин в низких концентрациях приводил к снижению ингибирующего влияния серотонина в некоторых из исследуемых концентраций. Учитывая, что механизм действия гистамина в высоких концентрациях и 5-НТ во всем исследуемом диапазоне концентраций на интактные лимфангионы связан с активацией эндотелиальных клеток, можно предположить, что в условиях перитонита влияние амикацина также может осуществляться через эндотелиоциты. Возможно, влияние амикацина связано с активацией схожего

с гистамином или серотонином механизма действия в лимфатических сосудах. Полученные данные являются новыми и требуют дополнительного изучения механизмов действия антибактериальных препаратов в интактных лимфангионах и при перитоните.

Влияние цефтриаксона в исследуемом диапазоне концентраций в условиях экспериментального перитонита на эффекты гистамина и серотонина в лимфатических сосудах статистически значимо не проявлялось. По-видимому, цефтриаксон не оказывает выраженного влияния на сократительную активность лимфангионов и чувствительность к исследуемым биогенным аминам при перитоните.

Полученные данные требуют дальнейшего изучения состояния реактивности лимфатических сосудов в условиях перитонита к регуляторным факторам на фоне применения антибактериальных препаратов.

Резюме

1. Параметры сократительной активности лимфатических сосудов в условиях перитонита имеют более низкое значение по отношению к интактным.

2. Реактивность лимфатических сосудов к гистамину в условиях перитонита сохраняется. Стимулирующее пропульсию лимфы действие гистамина в низких концентрациях не проявляется. Ингибирующее сократительную активность лимфатических сосудов влияние гистамина в высоких концентрациях становится менее выраженным.

3. Реактивность лимфатических сосудов к серотонину в условиях перитонита сохраняется, но вместо стимулирующего амплитуду фазных сокращений действия наблюдается на отрицательное хронотропное влияние.

4. Амикацин в диапазоне низких концентраций стимулирует моторику, в высоких концентрациях – ингибирует фазную активность в интактных лимфатических сосудах.

5. В условиях перитонита положительное хронотропное влияние амикацина в низких концентрациях становится более выраженным, но ингибирующее моторику влияние проявляется в ответ на действие препарата в более низких концентрациях.

6. Цефтриаксон в диапазоне низких концентраций увеличивает амплитуду фазных сокращений, а в высоких концентрациях – ингибирует моторику посредством снижения частоты фазных сокращений интактных лимфатических сосудов.

7. В условиях перитонита цефтриаксон в высоких концентрациях оказывает отрицательное хронотропное влияние на лимфатические сосуды. Действие цефтриаксона в низких концентрациях на фазную активность лимфатических сосудов при перитоните не проявляется, наблюдается только повышение тонуса лимфангионов.

8. Действие амикацина в высоких концентрациях снижает ингибирующее влияние гистамина на лимфатические сосуды при перитоните.

9. Действие амикацина в низких концентрациях снижает ингибирующее влияние серотонина на лимфатические сосуды при перитоните.

10. Действие цефтриаксона в исследуемом диапазоне концентраций не изменяет чувствительности лимфатических сосудов к гистамину и серотонину при перитоните.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гуморальные механизмы регуляции сократительной активности лимфатических сосудов занимают весьма значимое место в структуре факторов, определяющих моторику лимфангионов в интактных условиях и при перитоните. Целью настоящей работы было исследование механизмов действия гистамина и серотонина, как гуморальных факторов, обладающих значимым влиянием на моторику лимфангионов в интактном состоянии и при перитоните.

Учитывая тот факт, что влияние гистамина и серотонина на лимфангионы осуществляется посредством активации различных элементов стенки сосуда, были исследованы эндотелийзависимые и миогенные механизмы действия биогенных аминов.

Гистамин вызывает двухфазные изменения моторики лимфангионов. Тестируемое вещество в низких концентрациях (10^{-9} – 10^{-7} М) стимулирует фазную активность в лимфангионах через H_1 рецепторы, которые преимущественно локализируются на миоцитах (в условиях удаления эндотелиоцитов стимулирующее сократительную активность лимфангионов действие гистамина в низких концентрациях сохранялось).

Ингибирующее фазную активность действие гистамина в высоких концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} М) осуществляется через H_2 рецепторы, которые локализируются преимущественно на эндотелиальных клетках. При деэндотелизации снижающее моторику влияние гистамина в высоких концентрациях не проявляется. Механизм ингибирующего фазную активность влияния гистамина в высоких концентрациях связан с увеличением синтеза NO эндотелиоцитами, но он не является единственным. Применение блокатора синтеза простагландинов показало, что при действии гистамина в высоких концентрациях так же наблюдается ингибирование синтеза простагландинов, но простагландиновый механизм является менее значимым по сравнению с NO-зависимым.

Изучение механизма стимулирующего моторику действия гистамина в низких концентрациях показало, что тестируемое вещество вызывает поступление Ca^{2+} в клетку через потенциалзависимые медленные кальциевые каналы L-типа, что вызывает повышение частоты фазных сокращений [116]. Из внутриклеточных источников Ca^{2+} гистамин использует с IP_3 -зависимые, что приводит к увеличению амплитуды фазных сокращений [102]. IP_3 -зависимое депо Ca^{2+} для гистамина является менее значимым. Рианодинзависимый механизм активации сократительного аппарата для гистамина не характерен.

Серотонин в концентрациях 10^{-8} – 10^{-4} М вызывает дозозависимое повышение амплитуды фазных сокращений в интактных лимфатических сосудах, активируя фазный пул миоцитов. Также 5-НТ дозозависимо повышает тонус сосуда. Серотонин в низких концентрациях (10^{-8} – 10^{-7} М) в большей степени активирует фазный пул миоцитов, в высоких концентрациях (10^{-6} – 10^{-4} М) – фазный и тонический пулы миоцитов.

Стимулирующее влияние серотонина в интактных лимфангионах осуществляется во всех исследованных концентрациях через 5-НТ₂ тип специфических рецепторов, а в высоких концентрациях (10^{-5} и 10^{-4} М) дополнительно через адреномиметическое влияние (активацию α_2 -адренорецепторов).

Удаление эндотелия показало, что 5-НТ₂ и α_2 -адренорецепторы локализуются преимущественно на эндотелиальных клетках, так как в условиях деэндотелизации положительное инотропное влияние 5-НТ не проявляется, тонические реакции отсутствуют, наблюдается дозозависимый отрицательный хронотропный эффект. Расхождение в результатах, полученных Miyahara H. (1994) – удаление эндотелия не оказывало статистически значимого влияния на опосредованное 5-НТ₂ типом рецепторов действие серотонина в мезентериальных лимфатических сосудах быка – возможно, определяется различной видовой принадлежностью объекта исследования. Но, в то же время, наличие рецепторов к серотонину

на эндотелиоцитах мезентериальных лимфатических сосудов подтверждается Chan A.C. (2003).

Изменение характера ответной реакции лимфангионов на действие 5-НТ в условиях удаления эндотелия свидетельствует о более высокой чувствительности к серотонину рецепторов на эндотелиоцитах.

Изучение механизма эндотелийзависимого действия 5-НТ показало, что серотонин вызывает снижение синтеза NO эндотелиоцитами. Также 5-НТ влияет на синтез простагландинов в стенке лимфатического сосуда. В условиях действия ингибитора синтеза простагландинов – индометацина – стимулирующее влияние серотонина уменьшалось. Подобный механизм действия серотонина в лимфатических сосудах ранее показан не был, но Matsumoto T. (2010) в изолированных кольцах мезентериальных артерий мышей *in vitro* и Radenkovič M. (2010) в общей сонной артерии крысы зарегистрировано, что влияние 5-НТ осуществляется посредством изменения синтеза простагландинов [204, 244].

Исследование источников поступления ионов Ca^{2+} , активируемых серотонином показало, что эффект 5-НТ во всех исследуемых концентрациях осуществляется в результате повышения концентрации внутриклеточного Ca^{2+} в результате его поступления из внеклеточной жидкости через медленные Ca^{2+} каналы L-типа. Из внутриклеточных источников кальция серотонин в исследуемом диапазоне концентраций активирует IP_3 -зависимые депо, что подтверждается уменьшением стимулирующего влияния серотонина, в условиях блокады гепарином. Подобный механизм действия 5-НТ в лимфатических сосудах не рассматривался, но Montiel C. (1997) показано, что сократительный ответ изолированной коронарной артерии свиньи, опосредованный действием серотонина на $5-HT_2$ рецепторы реализуется через активацию IP_3 -зависимого депо ионов кальция [263]. Серотонин в высоких концентрациях (10^{-5} – 10^{-4} М) активирует дополнительно риадинзависимый источник Ca^{2+} . Исследований, рассматривающих этот аспект механизма действия 5-НТ, ранее не проводилось.

Применение методики моделирования перитонита по Данилову Б.С. (1974) позволило установить, что в условиях суточного перитонита наблюдается угнетение фазной активности лимфатических сосудов по отношению к интактным: снижается частота и амплитуда фоновой фазной активности. Причинами снижения параметров фазной активности, по-видимому, являются морфологические изменения в стенке лимфатического сосуда и угнетающее пейсмейкерные клетки при воспалении действие гистамина [26, 237].

Влияние гистамина на сократительную активность лимфатических сосудов при перитоните сохраняется, но становится менее выраженным по сравнению с действием вещества в интактных лимфангионах. Стимулирующее фазную активность лимфангионов действие гистамина в низких концентрациях не наблюдается, а ингибирующее сократительную функцию влияние гистамина в высоких концентрациях проявляется в меньшей степени.

Реактивность лимфатических сосудов к серотонину в условиях перитонита сохраняется, но стимулирующее фазную активность влияние сменяется на угнетающее.

Возможной причиной изменения в характере ответных реакций лимфангионов на действие гистамина и серотонина является, по-видимому, дисфункция эндотелиальных клеток [78]. Для серотонина еще одним предположительным механизмом модификации ответной реакции может быть активация 5-НТ₄ или 5-НТ₇ типов рецепторов, наличие которых в стенке лимфатического сосуда показано ранее McNale N.G. (2000) и Chan A.C. (2003) [117, 211].

Изучение влияния антибактериальных препаратов амикацина и цефтриаксона показало, что их действие на сократительную активность лимфангионов не характеризуется линейной дозозависимостью и имеет различный характер в интактных лимфатических сосудах и лимфангионах при перитоните.

Амикацин и цефтриаксон в диапазоне низких концентраций стимулируют сократительную активность интактных лимфатических сосудов, а в высоких концентрациях – угнетают моторику.

В условиях перитонита положительное хронотропное влияние амикацина в низких концентрациях становится более выраженным, действие цефтриаксона в низких концентрациях на моторику лимфатических сосудов не проявляется. В высоких концентрациях амикацин и цефтриаксон вызывают ингибирование моторики лимфангионов посредством снижения частоты фазных сокращений и повышения тонуса.

Несмотря на то, что влияние антибиотиков на интактные лимфатические сосуды и объекты после перитонита имеет неспецифический характер, в их действии в интактных лимфангионах просматривается определенное сходство: антибиотики в низких концентрациях стимулируют влияние на сократительную активность в интактных лимфатических сосудах, а в высоких концентрациях – ингибируют моторику. При перитоните амикацин и цефтриаксон в низких концентрациях вызывают повышение частоты фазных сокращений, а в высоких – понижение. Оба антибиотика приводят к повышению тонуса в лимфангионах при перитоните.

Амикацин и цефтриаксон влияют на эффекты гистамина и серотонина в лимфангионах различно. Действие амикацина снижает ингибирующее влияние гистамина и серотонина в лимфатических сосудах при перитоните. Цефтриаксон в исследуемом диапазоне концентраций не изменяет чувствительность лимфангионов к гистамину и серотонину при перитоните.

Причиной действия амикацина на эффекты биогенных аминов в лимфангионах может быть запуск схожих внутриклеточных механизмов, а цефтриаксон, по-видимому, влияет на моторику с использованием другого механизма, что требует дополнительных исследований. И, возможно, раскрытие механизмов полученных реакций позволит выявить причины развития лимфедемы в результате эндолимфатической антибиотикотерапии.

ВЫВОДЫ

1. Гистамин дозозависимо модулирует сократительную активность лимфангионов. Стимулирующее фазную активность действие вещества в низких концентрациях связано с активацией H_1 рецепторов на миоцитах лимфангионов и осуществляется посредством повышения концентрации внутриклеточного кальция, который поступает из интерстициального пространства через потенциалзависимые Ca^{2+} каналы L-типа и из внутриклеточного IP_3 -зависимого депо. Ингибирующее моторику действие гистамина в высоких концентрациях в лимфатических сосудах осуществляется через активацию H_2 рецепторов на эндотелиоцитах и связано с увеличением синтеза NO и простагландинов.

2. Серотонин дозозависимо стимулирует сократительную активность лимфангионов посредством активации специфических $5-HT_2$ и (в высоких концентрациях) α_2 -адренорецепторов, которые локализируются на эндотелиоцитах. Механизм действия серотонина связан с ингибированием синтеза NO и простагландинов. Серотонин вызывает поступление ионов кальция по потенциалзависимым каналам L-типа, активирует внутриклеточные IP_3 -чувствительные и риаудинзависимые депо кальция, что ведет к росту концентрации кальция в цитозоле и сокращению гладкомышечных клеток.

3. Параметры сократительной активности лимфатических сосудов при перитоните имеют более низкие значения.

4. Амикацин в высоких концентрациях ингибирует моторику в интактных лимфатических сосудах посредством снижения частоты фазных сокращений. В условиях перитонита у амикацина в низких концентрациях проявляется положительное хронотропное влияние, но угнетающее влияние амикацина проявляется в более низких концентрациях, чем в интактных лимфангионах.

5. Цефтриаксон в низких концентрациях в интактных лимфатических сосудах вызывает увеличение амплитуды фазных сокращений, а в высоких концентрациях – угнетает моторику посредством снижения частоты фазных сокращений и повышения тонуса. При перитоните цефтриаксон угнетает моторику лимфангионов посредством снижения частоты фазных сокращений и повышения тонуса.

6. Реактивность лимфатических сосудов к гистамину при перитоните сохраняется. Стимулирующее пропульсию лимфы действие гистамина в низких концентрациях не проявляется. Ингибирующее моторику лимфангионов влияние гистамина в высоких концентрациях становится менее выраженным. При перитоните действие амикацина снижает ингибирующее влияние гистамина в лимфатических сосудах, а действие цефтриаксона не изменяет характера ответных реакций на гистамин.

7. Реактивность лимфатических сосудов к серотонину в условиях перитонита сохраняется, но положительное инотропное действие 5-НТ изменяется на отрицательное хронотропное. При перитоните действие амикацина снижает ингибирующее влияние серотонина в лимфатических сосудах, а действие цефтриаксона не изменяет характера ответных реакций на серотонин.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

5-НТ – серотонин

АТФ – аденозинтрифосфат

ЕТ –эндотелин

IP₃ – инозитолтрифосфат

L-NAME – N(омега)-нитро-L-аргинин-метилэфир

NO – оксид азота

NOS – синтаза оксида азота

PG – простагландин

ТХ – тромбаксан

ЛС – лимфатические сосуды.

МПК –минимальная подавляющая концентрация в тканях

ПД – потенциал действия

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат

цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айнсон, Х.Х. Лимфообразование: в кн. Физиология кровообращения. Физиология сосудистой системы. (руководство по физиологии) / Х.Х. Айнсон. – Л.: Наука, 1984. – С. 306-317.
2. Амелин, А.В. Роль серотонина и серотониновых рецепторов в патогенезе мигрени и механизмах действия антимигренозных препаратов / А.В. Амелин, А.А. Скоромец, Ю.Д. Игнатов // Журнал неврологии и психиатрии. – 2000. – № 7. – С 55–58.
3. Андреевская, М.В. Влияние аминогликозидов и цефалоспоринов на транспортную функцию и структуру лимфангионов / М.В. Андреевская, И.А. Булатова // Мат. IV съезда лимфологов России, г. Москва, 15-17 сентября 2011 г. – М., 2011. – С. 5–6.
4. Антибактериальная терапия у больных с тяжелыми формами распространенного перитонита / Б.С. Брискин, М.Д. Дибиров, Н.Н. Хачатрян и др. // Consilium Medicum: приложение Хирургия. – 2008.– №1. – С. 23–26.
5. Антимикробная терапия перитонита / С.В. Яковлев, Р.С. Козлов, Е.Б. Гельфанд, и др. – М.: Литтера, 2006. – С. 150–155.
6. Арбулаев, М.Г. Влияние эндолимфатической терапии на заживление ложа аденомы предстательной железы после простатэктомии // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23-25 мая 2005 г. – СПб., 2005. – С. 14–16.
7. Ардасенов, А.В. Коррекция и профилактика нарушений микрогемодиализации органов и тканей в условиях воспаления с помощью активации опиоидэргической регуции лимфотока. // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23-25 мая 2005 г. – СПб., 2005. – С. 17–18.
8. Артеменко, Д.П. Модификация метода одинарного сахарозного мостика / Д.П. Артеменко // Физиол. Журн УССР. – 1982. – Т. 28, № 3. – С. 374–380.

9. Ахметбаева, Н.А. Изучение строения грудного протока у собак в постнатальном онтогенезе / Н.А. Ахметбаева // Журн. эвол. биох. и физиол. – 1980. – Т. 16, № 6. – С. 593–598.
10. Банин, В.В. Влияние интерстициальных факторов на параметры, определяющие транспорт жидкости через стенки кровеносных микрососудов брыжейки кошки / В.В. Банин // Физиол. журн. СССР. – 1986. – Т. 72, № 9. – С. 1213–1222.
11. Белобородов, В.Б. Антибактериальная терапия абдоминальных инфекций / В.Б. Белобородов // Consilium Medicum. Приложение Хирургия. – 2005. – Т. 7, № 1. – С. 1–9.
12. Белужников, А.Б. Комбинированная лимфотропная терапия в лечении больных с местным перитонитом / А.Б. Белужников // Вестник лимфологии. – 2008. – Т.3. – С 54.
13. Борисов, А.В. Принципы конструкции лимфатического сосуда в свете теории лимфангиона / А.В. Борисов // Структурно-функциональные основы лимфатической системы (теоретические и прикладные аспекты). СПб.: СПбГМА, 1997. – Вып. 1. – С. 6–12.
14. Борисов, А.В. Конструкция и функция мышцы лимфатического клапана / А.В. Борисов // Мат. Всерос. конф. «Новое в лимфологии: клиника, теория, эксперимент», г. Москва, 23–25 сентября 1993 г. – М., 1993. – С. 22–23.
15. Борисов, А.В. Конструкция лимфангиона в норме и патологии / А.В. Борисов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2005. – № 2(14). – С. 66-68.
16. Борисов, А.В. Теория конструкции лимфангиона / А.В. Борисов // Морфология. – 1997. – Т. 112, № 5. – С. 7–17.
17. Борисов А.В Лимфангионы грудного протока / А.В. Борисов // Грудной проток и лимфатические коллекторы организма. – Л.: ЛСГМИ, 1989. – С. 4–13.

18. Борисов, А.В. Анатомия лимфангиона / А.В. Борисов. – Нальчик: Полиграфсервис, 2007. – 296 с.
19. Борисов, А.В. Архитектоника, гистотопография и взаимосвязь миоцитов лимфатического сосуда и узла / А.В. Борисов // Лимфатический узел: анатомия, эксперимент, патология, клиника. – Л.: ЛСГМИ. – 1987. – С. 4-14.
20. Борисов, А.В. Значение конструкции лимфангиона как структурно-функциональной единицы лимфатического сосуда для биологии и медицины // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23–25 мая 2005 г. – СПб., 2005. – С.29–30.
21. Борисов, А.В. Интрамуральный нервный аппарат лимфангиона брыжейки тонкой кишки / А.В. Борисов // Морфология. – 1996. – Т. 110, № 4. – С. 96–101.
22. Борисов, А.В. Структурные основы моторной функции лимфангиона / А.В. Борисов // Проблемы функциональной лимфологии : тез. докл. Всесоюзн. конф. г. Новосибирск, 15–17 октября 1982 г. – Новосибирск: Наука, 1982. – С. 24–26.
23. Борисов, А.В. Функциональная морфология лимфангиона / А.В. Борисов // Лимфатический сосуд. – Л.: ЛСГМИ, 1984. – С. 5–13.
24. Борисова, Р.П. Действие интерлейкинов на сократительную активность лимфангионов / Р.П. Борисова, Н.А. Бубнова, О.Б. Чернышев // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23–25 мая 2005 г. – СПб., 2005. – С 33–34.
25. Борисова, Р.П. Интеграция нервных, гуморальных и местных влияний миоцитами лимфангиона / Р.П. Борисова // Мат конгр. лимфологов России, 22–23 октября 2000 г. – М.: НЦССХ им Бакулева, 2000. – С. 59.
26. Борисова, Р.П. Морфофункциональные основы лимфотока при лимфедеме / Р.П. Борисова // Проблемы лимфологии. – Новосибирск: Сибмедиздат НГМУ, 1987. – С. 11.

27. Борисова, Р.П. Теории транспорта лимфы – вчера, сегодня, завтра / Р.П. Борисова // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23–25 мая 2005 г. – СПб., 2005. – С. 31–32
28. Бородин, Ю.И. Общая анатомия лимфатической системы / Ю.И. Бородин, М.Р. Сапин, Л.Е. Этинген. – Новосибирск: Наука, 1990. – 243 с.
29. Бородин, Ю.И. Регионарная гемо- и лимфоциркуляция и ее место в реализации общей циркуляторной схемы организма / Ю.И. Бородин // Лимфология: эксперимент, клиника. – Новосибирск: НИИКиЭЛ СО РАМН, 1995. – Т. 3. – С. 5–8.
30. Бородин, Ю.И. Роль лимфатической системы в поддержании механизма окислительного гомеостаза в норме, при моделировании атеросклероза и его энтеральной коррекции сорбентом СИАЛ / Ю.И. Бородин // Бюл. СО РАМН. – 2006. – № 2. – С. 56–59.
31. Брауде, Н.Д. О взаимоотношениях кровеносного и лимфатического русел в лимфатическом узле / Н.Д. Брауде // ДАН СССР. – 1958. – Т. 122, № 4. – С. 706–708.
32. Вайсфельд, И.Л. Гистамин в биохимии и физиологии / И.Л. Вайсфельд, Г.Н. Кассиль. – М.: Наука, 1981. – 277 с.
33. Влияние ампициллин/сульбактама на сократительную активность венозных и лимфатических сосудов / М.В. Семак, Р.П. Борисова, Н.А. Бубнова, и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2011. – Т. 1, № 37. – С. 75–78
34. Выренков, Е.Я. Лимфатическая система человека в норме и патологии / Е.Я. Выренков // Лимфатическая система в норме и патологии [сб.ст.]. – М.: ЦИУ, 1967. – С. 18–53.
35. Выренков, Ю.Е. Лимфатический капилляр / Ю.Е. Выренков // Вестник лимфологии. – 2008. – Т. 3 – С. 50.
36. Гашев, А.А. Сердечные гликозиды, нитроглицерин, антибиотики: влияние на насосную функцию лимфангионов / А.А. Гашев, Р.С. Орлов, М.В.

Андреевская // Мат. конгр. лимфологов России г. Москва, 23–25 сентября 2000 г. – М.: НЦССХ им. Бакулева, 2000. – С. 138.

37. Гашев, А.А. Механизмы взаимодействия лимфангионов в процессе движения лимфы / А.А. Гашев // Физиол. журн. СССР. – 1990. – Т. 76, № 1. – С. 1489–1508.

38. Гладышева, Н.А. Влияние гипоксии на сократительную активность гладкомышечных клеток грудного лимфатического протока / Н.А. Гладышева // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1979. – Т. 65, № 10. – С. 1520–1528.

39. Грибкова, И.В. NO активирует Ca^{2+} -активируемый K^+ ток гладкомышечных клеток хвостовой артерии крысы через GMP-зависимый механизм / И.В. Грибкова // Кардиология. – 2002. – № 8. – С. 34–37.

40. Григорьев, В.Н. Гематолимфатические взаимоотношения и гемолимфоциркуляция в лимфатическом узле при венозном застое: Автореф. дисс... кандидата медицинских наук / Григорьев В.Н. – Новосибирск, 1983. – 27 с.

41. Егорова, А.А. Реактивность брыжеечных лимфатических сосудов к серотонину на фоне различного эндолимфатического давления / А.А. Егорова, Е.А. Авраменко, С.Г. Петунов // Мат. VII Всеросс. конф. с междунар. уч. «Механизмы функционирования висцеральных систем», Санкт-Петербург, 29 сентября – 2 октября, 2009 г. – СПб., 2009. – С. 158–159.

42. Ефименко, Н.А. Современный взгляд на антибактериальную терапию интраабдоминальных инфекций / Н.А. Ефименко, С.В. Яковлев // *Consilium Medicum*. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 23–26.

43. Жданов, Д.А. Общая анатомия и физиология лимфатической системы / Д.А. Жданов. – Л.: Медгиз, 1952. – 336 с.

44. Зверев, М.Д. Влияние активирующих и релаксирующих факторов на моторику лимфатических сосудов: Автореф. дисс... кандидата медицинских наук / М.Д. Зверев. – Л., 1989. – 20 с.

45. Ильичева, Р.Ф. Изменение обмена гистамина и серотонина в крови и лимфе у больных перитонитом / Р.Ф. Ильичева, А.А. Торицин // Хирургия. – 1981. – № 7. – С 46–51.
46. Кожевникова, Л.М. Активация "молчащих" вазоконстрикторных 5-НТ_{1А}-рецепторов как возможный механизм синергизма действия ангиотензина II и серотонина на тонус сосудов / Л.М. Кожевникова, И.Ф. Суханова, П.В. Авдонин // Известия РАН. Серия биологическая. – 2011. – № 1. – С. 68–76.
47. Кульбаев, И.С. О механизмах изменения лимфотока под влиянием вазоактивных веществ: Автореф. дисс... кандидата медицинских наук / И.С. Кульбаев. – Алма-Ата, 1981. – 22 с.
48. Кульбаев, Н.С. Соотношение лимфооттока и микроциркуляции при действии серотонина и брадикинина печени и почек / Н.С. Кульбаев, Н.В. Костюшина, В.И. Ткаченко // Физиол. журнал СССР им. И.М. Сеченова. – 1989. – Т. 79, № 4. – С. 555–561.
49. Лобов, Г.И. Гепарин ингибирует сокращения гладкомышечных клеток лимфатических сосудов / Г.И. Лобов, М.Н. Панькова // Бюл. экспериментальной медицины. – 2010. – Т. 149(1). – С 4-6.
50. Лобов, Г.И. Локализация и свойства пейсмекерных клеток лимфангиона / Г.И. Лобов // Докл. АН СССР. – 1987. – Т. 294, № 2. – С. 503–506.
51. Лобов, Г.И. Механизмы регуляции активной транспортной функции лимфатических сосудов / Г.И. Лобов // Иммуногенез и лимфоток. – СПб.: Тр. СПбГМА, 2001. – Вып. 2. – С. 17–25.
52. Лобов, Г.И. Механизмы саморегуляции лимфангиона / Г.И. Лобов // Грудной проток и лимфатические коллекторы организма. – Л.: Тр. ЛСГМИ, 1989. – С. 61–67.
53. Лобов, Г.И. Сократительная функция лимфатических сосудов при ацидозе / Г.И. Лобов, Н.А. Кубышкина // Структурно-функциональные

основы организации лимфатической системы. – СПб.: СПбГМА, 1998. – С. 84–86.

54. Лобов, Г.И. Электрическая активность гладкомышечных клеток лимфатических сосудов / Г.И. Лобов // Лимфатический сосуд. – Л.: ЛСГМИ, 1984. – С.68–72.

55. Лобов, Г.И. Электрическая и сократительная активность лимфангионов мезентериальных лимфатических сосудов / Г.И. Лобов, Р.С. Орлов // Физиол. журнал им И.М. Сеченова. – 1983. – Т. 69, № 12. – С 1614–1620.

56. Лобов, Г.И. Электрофизиологические свойства мембраны гладкомышечных клеток лимфатических сосудов / Г.И. Лобов // Докл. АН СССР. – 1984. – Т. 277, № 1. – С. 244–247.

57. Мамуровский, А.Г. Микроскопическое исследование движения лимфы и расстройства его при пассивной гиперемии и воспалении / А.Г. Мамуровский. – М.: Типография А.А. Левензон, 1886. – 32 с.

58. Микролимфология / В.В. Куприянов, Ю.И. Бородин, Я.Л. Караганов и др. – М.: Медицина, 1983. – 288 с.

59. Мотавкин, П.А. Гистофизиология сосудистых механизмов мозгового кровообращения / П.А. Мотавкин, В.М. Черток. – М.: Медицина, 1980. – 200 с.

60. Орлов, Р.С. Сокращения лимфатических сосудов, их регуляция и функциональная роль / Р.С. Орлов, Р.П. Борисова // Вест. АМН СССР. – 1982. – № 7. – С. 75–83.

61. Орлов, Р.С. Лимфатические сосуды. Структура и механизмы сократительной активности / Р.С. Орлов, А.В. Борисов, Р.П. Борисова. – Л. : Наука, 1983. – 254 с.

62. Орлов, Р.С. Нервная регуляция сократительной активности лимфатических сосудов и узлов / Р.С. Орлов, Р.П. Борисова, Г.И. Лобов // Мат. докл. и науч. сообщ. 12 Всес. конф. по физиологии и патологии кортико-висцеральных взаимоотношений, 15–17 апреля 1986. – Л., 1986. – С. 188.

63. Орлов, Р.С. Основы гидродинамики лимфангиона / Р.С. Орлов, Г.И. Лобов // Проблемы лимфологии. – Новосибирск: НГУ, 1987. – С. 50.
64. Орлов, Р.С. Сократительная и электрическая активность гладких мышц магистральных лимфатических сосудов / Р.С. Орлов, Р.П. Борисова, Е.С. Мандрыко // Физиол. журн. СССР. – 1975. – Т. 61. № 7. – С. 1045–1053.
65. Особенности адренэргической иннервации лимфангиона / И.А. Булатова, Е.Я. Малафеева, Е.О. Тихановская и др. // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23–25 мая 2005 г. – СПб., 2005. – С. 48–49.
66. Петренко, В.М. Клапаны способны активно регулировать лимфоток: структурные основы активных движений и их нервной регуляции / В.М. Петренко // Вестник лимфологии. – 2008. – № 2. – С 63–64.
67. Петренко, В.М. Сегментарная организация транспорта лимфы / В.М. Петренко // Фундаментальные исследования. – 2008. – № 12. – С. 13–16.
68. Петренко, В.М. Структурные основы в сегментарной организации активного лимфотока / В.М. Петренко // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2005. – № 2. – С. 5–12.
69. Петренко, В.М. Функциональная морфология лимфатических сосудов / В.М. Петренко. – СПб.: ДЕАН, 2008. – 400 с.
70. Попова, Н.К. Полиморфизм серотониновых 5-НТ-рецепторов как основа полифункциональности серотонина / Н. К. Попова, В.С. Науменко // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 8. – С. 778–786.
71. Русняк, И. Физиология и патология лимфообращения / И. Русняк, М. Фельди, Д.Сабо. – Будапешт: АН ВНР, 1957. – 856 с.
72. Семенов, А.Ю. Результаты региональной иммуномодуляции и лимфотропной антибиотикопрфилактики в лечении больных лимфедемой нижних конечностей / А.Ю. Семенов, Н. А. Бубнова, О.В. Фионик // Вестник СПбГУ. – 2006. – сер. 11 медицина, вып. 3. – С. 62–67.

73. Серов, В.В. Соединительная ткань / В.В. Серов, А.Б. Шехтер. – М.: Медицина, 1981. – С. 43–55.
74. Сесорова, И.С. Синтетический аппарат грудного протока в норме и после повреждения / И.С. Сесорова // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23–25 мая 2005 г. – СПб., 2005 – С. 278–280.
75. Сизова, Т.М. Статистика / Сизова Т.М. – СПб.: СПб ГУИТМО, 2005. – 80 с.
76. Сочетанное применение регионарной лимфотропной антиоксидантной терапии и длительной лечебной параперитонеальной блокады в консервативном лечении острого холецистита / А.М. Кадиров, М.М. Магомедов, А.М. Амирови и др. // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23–25 мая 2005 г. – СПб., 2005. – С. 25–26.
77. Тец В.В. Микроорганизмы и антибиотики. Сепсис / В.В. Тец . – СПб.: Эскулап, 2003. – 154 с.
78. Фрейдлин, И.С. Эндотелиальная клетка как мишень действия бактерий и их компонентов / И.С. Фрейдлин, Э.А. Старикова // Мед.акад. журн. – 2010. – Т. 10, № 4. – С.95–106.
79. Функциональная организация лимфатических микрососудов брыжейки крысы / Г.Е. Бриль, Е.И. Галанжа, С.С. Ульянов и др. // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 5. – С. 600–607.
80. Хирургическая лимфология / Л.В. Поташов, Н.А. Бубнова, Р.С. Орлов и др. – СПб.: СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2000. – 270 с.
81. Хугаева, В.К. Пептиды и регуляция микроциркуляции / В.К. Хугаева // Патологическая физиология органов и систем. Типовые патологические процессы. – М, 2000. – С. 275.
82. Хуранов, А.А. Эндолимфатическая и лимфотропная антибиотикотерапия в комплексном лечении разлитого перитонита / А.А. Хуранов // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 1 – С. 90–91.

83. Черныш, Н.В. Применение внутритканевого электрофореза с лимфотропным введением антибиотиков в комплексном лечении рожистого воспаления нижних конечностей / Н.В. Черныш, А.В. Дедов, Н.А. Бубнова // Мат. II съезда лимфологов России, г. Санкт-Петербург, 23–25 мая 2005 г. – СПб., 2005. – С 338–339
84. Шахламов, В.А. Очерки по ультраструктурной организации сосудов лимфатической системы / В.А. Шахламов, А.П. Цамерян. – Новосибирск: Наука, 1988. – 120 с.
85. Экспериментальная модель распространенного калового перитонита / В.А. Лазаренко, В.А. Липатов, Ю.Ю. Блинков и др // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2008. – № 4. – С. 128–132.
86. Эндолимфатическая антибиотикотерапия / Р.Т. Панченков, Ю.Е. Выренков, И. В. Ярема и др. – М.: Медицина, 1984. – 240 с.
87. Эндолимфатическая терапия в комплексном лечении абсцессов в брюшной полости / Б.М. Уртаев, А.Л. Акопян, В.А. Ковалев и др. // Вестник лимфологии. – 2008. – Т. 3. – С. 60–61.
88. Яковлев, С.В. Современный взгляд на антибактериальную терапию интраабдоминальных инфекций. / С.В. Яковлев // Consilium medicum. – 2002. – Т.4. – № 6. – С.304–309.
89. 5-hydroxytryptamine modulates migration, cytokine and chemokine release and T-cell priming capacity of dendritic cells in vitro and in vivo / T. Müller, T. Dürk, B. Blumenthal, M. Grimm et al. // PLoS One. – 2009. – Vol. 4, № 7. – P. 6453.
90. A revised model for the secretion of tPA and cytokines from cultured endothelial cells / L. Knipe, A. Meli, L. Hewlett et al. // Blood. – 2010. – Vol. 116, № 12. – P. 2183–2191.
91. Aantaa, R. Molecular pharmacology of alpha 2-adrenoceptor subtypes / R. Aantaa, A. Marjamäki, M. Scheinin // AnnMed. – 1995. – Vol. 27, № 4. – P. 439–49.

92. Activation by Ca^{2+} /calmodulin of an exogenous myosin light chain kinase in mouse arteries / H. Raina, J. Zacharia, M. Li et al. // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 587, Pt 11. – P. 2599–2612.
93. Agonist-induced internalization of histamine H_2 receptor and activation of extracellular signal-regulated kinases are dynamin-dependent / A.J. Xu, A. Kuramasu, K. Maeda et al. // *J. Neurochem.* – 2008. – Vol. 107, № 1. – P. 208–217.
94. Allen, J.A. Insights into the regulation of 5-HT $_{2A}$ serotonin receptors by scaffolding proteins and kinases / J.A. Allen, P.N. Yadav, B.L. Roth // *Neuropharmacology.* – 2008. – Vol. 55, № 6. – P. 961–968.
95. An important role of lymphatic vessel activation in limiting acute inflammation / R. Huggenberger, S.S. Siddiqui, D. Brander et al. // *Blood.* – 2011. – Vol. 117, № 17. – P. 4667–4678.
96. Anderson, W.D. Inhibition of contraction of isolated lymphatic ducts by atrial natriuretic peptide / W.D. Anderson, T.J. Kulik, J.E. Mayer // *Am. J. Physiol.* – 1991. – Vol. 260, № 3 (Pt 2). – P. 610–614.
97. Apple procyanidins induce hyperpolarization of rat aorta endothelial cells via activation of K^+ channels. / E.B. Byun, S. Korematsu, T. Plaku et al. // *J. Nutr. Biochem.* – 2012. – № 23 (3). – P. 278–286.
98. Arkill, K.P. The structure and mechanical properties of collecting lymphatic vessels: an investigation using multimodal nonlinear microscopy / K.P. Arkill, J. Moger, C.P. Winlove // *J. Anat.* – 2010. – Vol. 216(5). – P. 547–555.
99. Azuma, T. Electrical activity of lymphatic smooth muscles / T. Azuma, T. Ohhashi, M. Sakaguchi // *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* – 1977. – Vol. 155(2). – P. 270–273.
100. Barrowman, J.A. Physiology of the gastro-intestinal lymphatic system / J.A. Barrowman // *Monograph. Physiol. Soc.* – 1978. – Vol. 33, № IX–XII. – P. 1–312.
101. Bazigou E. Primary and secondary lymphatic valve development: molecular, functional and mechanical insights. / E. Bazigou, J.T. Wilson, J.E. Jr. Moore // *Microvasc. Res.* – 2014. – № 96. – P. 38–45.

102. Berridge, M.J. Inositol trisphosphate and calcium signaling / M.J. Berridge // *Nature*. – 1993. – Vol. 361. – P. 315–325.
103. Bimodal regulation of the human H₁ histamine receptor by G protein-coupled receptor kinase 2 / K. Iwata , J. Luo , R.B. Penn et al. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280, № 3. – P. 2197–2204.
104. Bogdan, C. Nitric oxide and the immune response / C. Bogdan // *Nat. Immunol.* – 2001. – Vol. 2, № 10. – P 907–916.
105. Bondarenko, O.I. Mitochondrial Na⁺-Ca²⁺-exchanger inhibitor CGP37157 produces endothelial cell depolarization with membrane potential oscillations / O.I. Bondarenko, V.F. Sahach // *Fiziol. Zh.* – 2011. – Vol. 57, № 1. – P 9–16.
106. Bongers G.I. Molecular pharmacology of the four histamine receptors / G.I. Bongers, de Esch, R. Leurs // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2010. – Vol. 709. – P11–19.
107. Brayden, J.E. Membrane hyperpolarization is a mechanism of endothelium-dependent cerebral vasodilation / J.E. Brayden // *Am. J. Physiol.* – 1990. – Vol. 259. – P. 668–673.
108. Bridenbaugh, E.A. Lymphatic muscle: a review of contractile function / E.A. Bridenbaugh, A.A. Gashev, D.C. Zawieja // *Lymphat. Res. Biol.* – 2003. – Vol. 1, № 2. – P. 147–158.
109. Buhner, S. Mast cell-nerve axis with a focus on the human gut / S. Buhner, M. Schemann // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2012. – Vol. 1822 (1). – P. 85–92.
110. Ca²⁺ signaling, TRP channels, and endothelial permeability / C. Tirupathi, G.U. Ahmmed, S.M. Vogel et al. // *Microcirculation.* – 2006. – Vol. 13, № 8. – P. 693–708.
111. Casley-Smith, J.R. Are the initial lymphatics normally pulled open by the anchoring filaments? / J.R. Casley-Smith // *Lymphology.* – 1980. – Vol. 13, №3. – P. 120–129.
112. Casley-Smith, J.R. Colloidal osmotic pressure as a force in the formation of lymph / J.R. Casley-Smith // *Bibl. Anat.* – 1977. – Vol. 15, Pt. 1. – P. 496–498.
113. Casley-Smith, J.R. New trends in lymphology. Functional fine structure / J.R. Casley-Smith // *Experientia.* – 1976. – Vol. 32, № 1. – P.818–820.

114. Casley-Smith, J.R. The functioning and interrelationships of blood capillaries and lymphatics / J.R. Casley-Smith // *Experientia*. – 1976. – Vol. 32, № 1. – P. 1–12.
115. Casley-Smith, J.R. Protein concentrations in regions with fenestrated and continuous blood capillaries and in initial and collecting lymphatics / J.R. Casley-Smith, M.A. Sims // *Microvasc. Res.* – 1976. – Vol. 12, № 3. – P. 245–257.
116. Chalmers, S. Ion channels in smooth muscle: regulation by the sarcoplasmic reticulum and mitochondria / S. Chalmers, M.L. Olson, D. MacMillan // *Cell Calcium*. – 2007. – Vol. 42(4–5). – P. 447–466.
117. Chan, A.K. 5-HT decreases contractile and electrical activities in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery: role of 5-HT₇-receptors / A.K. Chan, P.Y. von der Weid // *Br. J. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 139, № 2. – P. 243–254.
118. Characteristics of the active lymph pump in bovine prenodal mesenteric lymphatics / A.A. Gashev, W. Wang, G.A. Laine et al. // *Lymphat. Res. Biol.* – 2007. – Vol. 5, № 2. – P. 71–79.
119. Characterization of beta-adrenoceptor subtypes and indications for two cell populations in isolated bovine mesenteric lymphatic vessels / L. Mahe, B. Chapelain, Y.M. Gargouil et al. // *Eur. J. Pharmacol.* – 1991. – Vol. 199, № 1. – P. 19–25.
120. Characterization of biosynthesis and modes of action of prostaglandin E₂ and prostacyclin in guinea pig mesenteric lymphatic vessels / S. Rehal, P. Blanckaert, S. Roizes et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 158, № 8. – P. 1961–1970.
121. Characterization of intact mesenteric lymphatic pump and its responsiveness to acute edemagenic stress / J.N. Benoit, D.C. Zawieja, A.H. Goodman et al. // *Am J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1989. – Vol. 257. – P. 2059–2069.
122. Chen, Y.K. Free and conjugated catecholamines and serotonin in canine thoracic duct lymph: effects of feeding / Y.K. Chen, H.M. Richter, V.L. Go et al. // *Am. J. Physiol.* – 1993. – Vol. 265(2 Pt 1). – P. 184–189.

123. Contractile response in isolated human groin lymphatics / T. Sjöberg, P. Alm, K.E. Andersson et al. // *Lymphology*. – 1987. – Vol. 20, № 3. – P. 152–160.
124. Contractile responses to histamine and GTP gamma S in beta-escin-treated skinned smooth muscle of guinea pig ileum. / K. Fukami, M. Itagaki, S. Komori et al. // *Jpn. J. Pharmacol.* – 1993. – Vol. 63, № 2. – P. 171–179.
125. Co-ordination of contractile activity in guinea-pig mesenteric lymphatics / J.C. Melissa, P.Y. von der Weid, J.A. Brock et al. // *Journal of Physiology*. – 1997. – Vol. 500(1). – P. 235–244.
126. Coupling of the alpha 2A-adrenergic receptor to multiple G-proteins. A simple approach for estimating receptor-G-protein coupling efficiency in a transient expression system / O. Chabre, B.R. Conklin, S. Brandon et al. // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269, № 8. – P. 5730–5734.
127. Cox, D.A. 5-HT_{2B} receptor signaling in the rat stomach fundus: dependence on calcium influx, calcium release and protein kinase C / D.A. Cox, M.L. Cohen // *Behav. Brain Res.* – 1996. – Vol. 73(1–2). – P. 289–292.
128. Cyclopiazonic acid decreases spontaneous transient depolarizations in guinea pig mesenteric lymphatic vessels in endothelium-dependent and independent manners / I. Ferrusi, J. Zhao, D. van Helden et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2004. – Vol. 286, № 6. – P. 2287–2295.
129. Datté, J.Y. Involvement of nitric oxide in fading of 5-hydroxytryptamine-induced vasoconstriction in rat isolated vena portae smooth muscle / J.Y. Datté, M.A. Offoumou // *J. Pharm. Pharm. Sci.* – 2004. – Vol. 23(7), №1. – P.1–7.
130. Dobbins, D.E. Catecholamine-mediated lymphatic constriction: involvement of both alpha₁- and alpha₂-adrenoreceptors / D.E. Dobbins // *Am. J. Physiol.* – 1992. – Vol. 263, № 2, Pt 2. – P. 473–478.
131. Dobbins, D.E. Receptor mechanisms of serotonin-induced prenodal lymphatic constriction in the canine forelimb / D.E. Dobbins // *Am. J. Physiol.* – 1998. – Vol. 274, №2, Pt 2. – P. 650–654.
132. Dobbins, D.E. Constriction of canine prenodal lymphatic vessels following the intra-arterial injection of vasoactive agents and hemorrhage / D.E. Dobbins,

- M.J. Buehn, J.M. Dabney // *Microcirc. Endothelium Lymphatics*. – 1987. – Vol. 3, № 3–4 – P. 297–310.
133. Dobbins, D.E. Constriction of perfused lymphatics by acetylcholine, bradykinin and histamine / D.E. Dobbins, M.J. Buehn, J.M. Dabney // *Microcirc. Endothelium Lymphatics*. – 1990. – Vol. 6, № 6. – P. 409–425.
134. Dobbins, D.E. Effects of bolus injections of leukotrienes and norepinephrine on forelimb vascular and lymphatic pressures / D.E. Dobbins, M.J. Buehn, J.M. Dabney // *Microcirc. Endothelium Lymphatics*. – 1988. – Vol. 4, № 3. – P. 249–264.
135. Downregulation of basophil-derived IL-4 and in vivo T(H)2 IgE responses by serotonin and other organic cation transporter 3 ligands / E.Schneider, F. Machavoine, R. Bricard-Rignault et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – № 128(4). – P. 864–871.
136. Dvorak, A.M. The vesiculo-vacuolar organelle (VVO). A new endothelial cell permeability organelle / A.M. Dvorak, D. Feng // *J. Histochem. Cytochem.* – 2001. – Vol. 49(4). – P. 419–432.
137. Dynamic metabolic control of an ion channel / B. Hille, E. Dickson, M. Kruse et al. // *Prog. Mol. Biol. Trans. Sci.* – 2014. – № 23. – P. 219–247.
138. Effect of acute hypoxia in pregnant females on contractile activity of lymphatic vessels in the offspring / L.Ts. Sanzhieva, A.S. Graf, M.V. Maslova et al. // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2004. – Vol. 138, № 1. – P.12–13.
139. Effect of *Gnaphalium conoideum* HBK on guinea pig airway smooth muscle: role of L-type Ca²⁺ channels / P. Campos-Bedolla, L.M. Montaña, E. Flores-Soto et al. // *J. Ethnopharmacol.* – 2005. – Vol. 97, № 2. – P. 267–272.
140. Effect of vagotomy on dynamics of mesenteric lymphatic vessels in the rat / Y. Fang , Z. Ding , Y. Bi et al. // *Chin. J. Physiol.* – 2007. – Vol. 50, № 2. – P. 89–92.
141. Effects of calcium antagonists on serotonin and noradrenaline venoconstriction in humans / A. Panconesi, G. Franchi, B. Anselmi et al. // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 1988. – Vol. 43, № 4. – P. 442–448.

142. Effects of cooling on histamine-induced contractions of human umbilical artery: the role of ion channels / K.E. Atalik, M. Kiliç, Z.U. Nurullahoğlu et al. // *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 29. – № 9. – P. 619–623.
143. Effects of Low-Dose Heparin Infusion on Arterial Endothelin-1 Release in Humans / P.M. Piatti, L.D. Monti, G. Valsecchi et al. // *Circulation.* – 1996. – № 94. – P. 2703–2707.
144. Effects of nitroglycerin, dipyridamole, nifedipine, verapamil and diltiazem on canine coronary arterial rings contracted with 5-hydroxytryptamine and anoxia / J.A. Barrett, V. DePaul Lynch, J. Balkon et al. // *Pharmacology.* – 1986. – Vol. 33, № 3. – P.139–147.
145. Ekelund, U. Differentiated sites of action of endogenous endothelium-derived nitric oxide and of exogenous endothelin-1 in the macro- and microcirculation in vivo. "Abstracts of 2-nd Int. Symp. on endothelium-derived vasoactive factors" / U. Ekelund, U. Albert, S. Mellander // *J. Vasc. Res.* – 1992. – Vol. 29, № 2. – P. 110.
146. En route to new blockbuster anti-histamines: surveying the offspring of the expanding histamine receptor family / R. Leurs, H.F.Vischer, M. Wijtmans et al. // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2011. – Vol. 32, № 4. – P. 250–257.
147. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries / R.F. Furchgott, P.D. Cherry, J.V. Zawadzki et al. // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1984. – Vol. 6 (2). – P. 336–343.
148. Evidence for a second valve system in lymphatics: endothelial microvalves. / J. Trzewik, S.K. Mallipattu, G.M. Artmann et al. // *FASEB J.* – 2001. – № 15. – P. 1711–1717.
149. Evidence that the ATP-induced increase in vasomotion of guinea-pig mesenteric lymphatics involves an endothelium-dependent release of thromboxane A₂ / J. Gao, J. Zhao, S.E. Rayner, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 127, № 7. – P. 1597–1602.

150. Ferguson, M.K. Modulation of lymphatic smooth muscle contractile responses by the endothelium / Ferguson M.K. // *J. Surg. Res.* – 1992. – Vol. 52, №4. – P. 359–363.
151. Ferguson, M.K. Nitric oxide and endothelium-dependent relaxation in tracheobronchial lymph vessels / M.K. Ferguson, V.J. DeFilippi // *Microvasc. Res.* – 1994. – Vol. 47, № 3. – P. 308–317.
152. Ferguson, M.K. Lymphatic smooth muscle responses to leukotrienes, histamine and platelet activating factor / M.K. Ferguson, H.K. Shahinian, F. Michelassi // *J. Surg. Res.* – 1988. – Vol. 44, №2. – P.172–177.
153. Florey, H. Observations on the contractility of lacteals / H. Florey // *J. Physiol.* – 1927. – Vol. 63. – P. 1298–1301.
154. Fox, J.L. Effects of histamine on the contractile and electrical activity in isolated lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery / J.L. Fox, P.Y. von der Weid // *Br. J. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 136, №8. – P. 1210–1218.
155. Frazer, A. "Chapter 13: Serotonin Receptors" / A. Frazer, J.G. Hensler // *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects: Lippincott.* – 1999. – P. 263–292.
156. Fujisawa, H. Regulation of the activities of multifunctional Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinases / H. Fujisawa // *J. Biochem.* 2001. – № 129 (2). – P.193–199.
157. Gashev, A.A. Basic mechanisms controlling lymph transport in the mesenteric lymphatic net / A.A. Gashev // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 1207 (1). – P. 16–20.
158. Gashev, A.A. Inhibition of the active lymph pump by flow in rat mesenteric lymphatics and thoracic duct / A.A. Gashev, M.J. Davis, D.C. Zawieja // *J. Physiol.* – 2002. – Vol. 540, Pt 3. – P. 1023–1037.
159. Gasheva, O.Y. Contraction-initiated NO-dependent lymphatic relaxation: a self-regulatory mechanism in rat thoracic duct / O.Y. Gasheva, A.A. Gashev, D.C. Zawieja // *J. Physiol.* – 2006. – Vol. 575, Pt. 3. – P. 821–832.

160. Ghosh, T.K. Competitive, reversible, and potent antagonism of inositol 1,4,5-trisphosphate-activated calcium release by heparin / T.K. Ghosh, P.S. Eis, J.M. Mullaney // *J. Biol. Chem.* – 1988. – Vol. 263, № 23. – P. 11075–11079.
161. Gokina, N.I. Histamine-induced depolarization: ionic mechanisms and role in sustained contraction of rabbit cerebral arteries / N.I. Gokina, J.A. Bevan // *Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol.* – 2000. – Vol. 278, № 6. – P. 2094–2104.
162. Granger, D.N. *Inflammation and the Microcirculation* / D.N. Granger, E. Senchenkova. – San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences, 2010. – 375 p.
163. Guyton, A. The energetics of lymph formation / A. Guyton, B. Barber // *Lymphology.* – 1980. – Vol. 13. – P. 173–176.
164. Haddy, F.J. Effects of histamine on lymph protein concentration and flow in the dog forelimb / F.J. Haddy, J.B. Scott, G.J. Grega // *Am. J. Physiol.* – 1972. – Vol. 223, № 5. – P. 1172–1177.
165. Hall, J.G. Intrinsic rhythmic propulsion of lymph in unanesthetized sheep / J.G. Hall, B. Morris, G. Woolley // *J. Physiol.* – 1965. – Vol. 180, № 2. – P. 336–349.
166. Hanley, C. Is endothelium necessary for transmural pressure-induced contractions of bovine truncal lymphatics? / C. Hanley, R. Elias, M.G. Johnston // *Microvasc. Res.* – 1992. – Vol. 43, № 1. – P. 134–146.
167. Harty, H.R. Neurotransmission in isolated sheep mesenteric lymphatics / H.R. Harty, K.D. Thornbury, N.G. McHale // *Microvasc. Res.* – 1993. – Vol. 46, № 3. – P. 310–319.
168. Hashimoto, S. Effects of vasoactive substances on the pig isolated hepatic lymph vessels / S. Hashimoto, Y. Kawai, T. Ohhashi // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1994. – Vol. 269, № 2. – P. 482–488.
169. Heparin regulates endothelin production through endothelium-derived nitric oxide in human endothelial cells / K. Yokokawa, H. Tahara, M. Kohno et al. // *J. Clin. Invest.* – 1993. – Vol. 2, № 4. – P. 2080–2085.

170. Heppell, C.A Model for Interstitial Drainage Through a Sliding Lymphatic Valve. / C. Heppell, T. Roose , G. Richardson // *Bull. Math. Biol.* – 2015. – №77(6). –P. 1101–1131.
171. Heterogeneity amongst 5-HT₃ receptor subunits: is this significant? / N. Yaakob, D.T. Malone, B. Exintaris et al. // *Curr. Mol. Med.* – 2011. – Vol. 11, № 1. – P. 57–68.
172. Heterogeneity of tracheobronchial lymphatic smooth muscle responses to histamine and 5-hydroxytryptamine / M.K. Ferguson, U.E. Williams, A.R. Leff et al. // *Lymphology.* – 1993. – Vol. 26, № 3. – P. 113–119.
173. Hideaki, K. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle / K. Hideaki, O. Hiroshi, H. Masatoshi // *Pharm. Rev.* – 1997. – Vol. 49 (2). – P. 157–230.
174. High-dose heparin decreases nitric oxide production by cultured bovine endothelial cells / G.R. Upchurch, G.N. Welch , J.E. Freedman et al. // *Circulation.* – 1997. – Vol. 95, № 8. – P. 2115–2121.
175. Histamine H₂ receptor overexpression induces U937 cell differentiation despite triggered mechanisms to attenuate cAMP signaling / F. Monczor, N. Fernandez, E. Riveiro et al. // *Biochem. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 71, № 8. – P. 1219–1228.
176. Histamine stimulation of prostaglandin and HETE synthesis in human endothelial cells / G.E. Revtyak, M.J. Hughes, A.R. Johnson et al. // *Am. J. Physiol.* – 1988. – Vol. 255, № 2 (1). – P. 214–225.
177. Histamine-induced fluid efflux in the canine forelimb as affected by carotid occlusion or hemorrhage / J.M. Dabney, C.Y. Soika, A.J. Premen et al. // *Microcirc. Endothelium Lymphatics.* – 1984. – Vol. 1, № 3. – P 247–271.
178. Histamine-induced modulation of vascular tone in the isolated chicken basilar artery: a possible involvement of endothelium / T. Okuno, A. Yabuki, M. Shiraishi, et al. // *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 147, № 3. – P. 339–344.

179. Histamine-mediated increases in cytosolic $[Ca^{2+}]$ involve different mechanisms in human pulmonary artery smooth muscle and endothelial cells / J.R. Mauban, K. Wilkinson, C. Schach et al. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2006. – Vol. 290, № 2. – P. 325–336.
180. Horstmann, E. Beobachtungen zur Motorik der Lymphgefäße / E. Horstmann // *Pflügers Arch.* – 1959. – Bd. 269. – S. 511–519.
181. Horstmann, E. Über die funktionelle Struktur der mesenterialen Lymphgefäße // *Morphol. Jb.* – 1951. – Bd. 91. – S. 483–510.
182. Human thoracic duct in vitro: diameter-tension properties, spontaneous and evoked contractile activity / N. Telinius, N. Drewsen, H. Pilegaard et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2010. – Vol. 299, № 3. – P. 811–881.
183. Huxley, V.H. Lymphatic Fluid: Exchange Mechanisms and Regulation / V.H. Huxley, J.P. Scallan // *J. Physiol.* – 2011. – Vol. 589, Pt. 12. – P. 2935–2943.
184. Igarashi, T. Electrical stimulation-induced α_1 - and α_2 -adrenoceptor-mediated contraction in isolated dog thoracic ducts / T. Igarashi, F. Ikomi, T. Ohhashi // *J. Auton. Nerv. Syst.* – 1998. – Vol. 71, № 1. – P. 18–24.
185. IL-1 and related cytokines enhance thrombin-stimulated PGI₂ production in cultured endothelial cells without affecting thrombin-stimulated von Willebrand factor secretion or platelet-activating factor biosynthesis / G.B. Zavoico, B.M. Ewenstein, A.I. Schafer et al. // *J. Immunol.* – 1989. – Vol. 142, № 11. – P. 3993–3999.
186. Imtiaz, M.S. Synchronization of Ca^{2+} oscillations: a coupled oscillator-based mechanism in smooth muscle / M.S. Imtiaz, P.Y. von der Weid, D.F. van Helden // *FEBS J.* – 2010. – Vol. 277, № 2. – P. 278–285.
187. Inhibitory effects of histamine H₄ receptor antagonists on experimental colitis in the rat / C. Varga, K. Horvath, A. Berko et al. // *European Journal of Pharmacology.* – 2005. – Vol. 522, № 1–3. – P. 130–138.
188. Inositol trisphosphate receptor Ca^{2+} release channels / J.K. Foskett, C. White, K.H. Cheung et al. // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87, № 2. – P. 593–658.

189. Involvement of calcium-calmodulin-dependent protein kinase II in endothelin receptor expression in rat cerebral arteries / R. Waldsee, H. Ahnstedt, S. Eftekhari et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2010. – Vol. 298, № 3. – P. 823–832.
190. Ishikawa, T. Molecular pharmacology of calcium, calmodulin-dependent myosin phosphorylation in vascular smooth muscle / T. Ishikawa, H. Hidaka // *Am. J. Hypertens.* – 1990. – Vol. 8(2). – P. 231S–234S.
191. Johnston, M.G. Effects of arachidonic acid and its cyclo-oxygenase and lipoxygenase products on lymphatic vessel contractility in vitro / M.G. Johnston, A. Kanalec, J.L. Gordon // *Prostaglandins.* – 1983. – Vol. 25, № 1. – P. 85–98.
192. Johnston, M.G. Suppression of lymphatic vessel contractility with inhibitors of arachidonic acid metabolism / M.G. Johnston, C. Feuer // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1983. – Vol. 226, № 2. – P. 603–607.
193. Kamper, A.M. Prostaglandins are involved in acetylcholine- and 5-hydroxytryptamine-induced, nitric oxide-mediated vasodilatation in human forearm / A.M. Kamper, L.C. Paul, G.J. Blauw // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 40, № 6. – P. 922–929.
194. Kanashiro, C.A. Preconditioning of coronary artery against vasoconstriction by endothelin-1 and prostaglandin F₂ during repeated downregulation of epsilon-protein kinase C / C.A. Kanashiro, K.A. Altirkawi, R.A. Khalil // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 35, – P. 491–501.
195. Kholová, I. Lymphatic system: morphology and pathology update / I. Kholová // *Cesk. Patol.* – 2010. – Vol. 46, № 4. – P. 98–103.
196. Kirkpatrick, C.T. Electrical and mechanical activity of isolated lymphatic vessels / C.T. Kirkpatrick, N.G. McHale // *J. Physiol.* – 1977. – Vol. 272, № 1. – P. 33–34.
197. Komuro, N. The fine structure of smooth muscle cells and their relationship to connective tissue in the rabbit portal vein / N. Komuro, G. Burnstock // *Cell. Tissue Res.* – 1980. – Vol. 210, №2. – P. 257–267.

198. Kume, T. Lymphatic vessel development: fluid flow and valve-forming cells. / T. Kume // *J. Clin. Invest.* – 2015. – № 125 (8).– P. 2924–2926.
199. Laver, D.R. Ca^{2+} stores regulate ryanodine receptor Ca^{2+} release channels via luminal and cytosolic Ca^{2+} sites / D.R. Laver // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2007. – Vol. 34, № 9. – P. 889–896.
200. Leurs, R. Molecular pharmacological aspects of histamine receptors / R. Leurs, M.J. Smit, H. Timmerman // *Pharmacol. Ther.* – 1995. – Vol. 66, № 3. – P. 413–463.
201. Lymphangion coordination minimally affects mean flow in lymphatic vessels / A.M. Venugopal, R.H. Stewart, G.A. Laine et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2007. – Vol. 293, № 2. – P. 1183–1189.
202. Lymphatic motility / I.C. Roddie, H.J. Mawhinney, N.G. McHale et al. // *Lymphology.* – 1980. – Vol. 13, № 4. – P. 166–172.
203. Lymphatic pump-conduit duality: contraction of postnodal lymphatic vessels inhibits passive flow / C.M. Quick, B.L. Ngo, A.M. Venugopal et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009. – Vol. 296, № 3. – P. 662–668.
204. Matsumoto, T. Enhancement of mesenteric artery contraction to 5-HT depends on Rho kinase and Src kinase pathways in the ob/ob mouse model of type 2 diabetes / T. Matsumoto, T. Kobayashi, K. Ishida et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 160, № 5. – P. 1092–1104.
205. Mátyás, S. Involvement of different Ca^{2+} sources in changes of responsiveness of guinea-pig trachea to repeated administration of histamine and acetylcholine / S. Mátyás, V. Pucovský, V. Bauer // *Gen. Physiol. Biophys.* – 1995. – Vol. 14, №1. – P. 51–60.
206. Mawhinney, H.J. Spontaneous activity in isolated bovine mesenteric lymphatics / H.J. Mawhinney, I.C. Roddie // *J. Physiol.* – 1973. – Vol. 229, № 2. – P. 339–348.
207. Mawhinney, J.A. Evidence for alpha-adrenergic innervation of the isolated canine thoracic duct / J.A. Mawhinney, K. Zimmerman, W.F. Middendorf // *J. Appl Physiol.* – 1980. – Vol. 49, № 6. – P. 1010–1015.

208. McGeown, J.G. Seeing is believing! Imaging Ca^{2+} -signalling events in living cells / J.G. McGeown // *Exp. Physiol.* – 2010. – Vol. 95, № 11. – P. 1049–1060.
209. McHale, N.G. Lymphatic innervations / N.G. McHale // *Blood Vessels.* – 1990. – Vol. 27, № 2–5. – P. 127–136.
210. McHale, N.G. Nervous modulation of spontaneous contractions in bovine mesenteric lymphatics / N.G. McHale, I.C. Roddie, K.D. Thornbury // *J. Physiol.* – 1980. – Vol. 309. – P. 461–472.
211. McHale, N.G. 5-HT inhibits spontaneous contractility of isolated sheep mesenteric lymphatics via activation of 5-HT_4 receptors / N.G. McHale, K.D. Thornbury, M.A. Hoolywood // *Microvasc. Res.* – 2000. – Vol. 60, № 3. – P. 261–268.
212. McHale, N.G. The effect of external Ca^{2+} concentration on the contractility of bovine mesenteric lymphatics / N.G. McHale, J.M. Allen // *Microvasc. Res.* – 1983. – Vol. 26, № 2. – P. 182–92.
213. McNamee, J.E. Histamine decreases selectivity of sheep lung blood-lymph barrier / J.E. McNamee // *J. Appl. Physiol.* – 1983. – Vol. 54, № 4. – P. 914–918.
214. Mechanisms of edema formation by histamine administered locally into canine forelimbs / G.J. Grega , R.L. Kline , D.E. Dobbins et all. // *Am J Physiol.* – 1972. – Vol. 223, № 5. – P. 1165–1171.
215. Meininger, G.A. Cellular mechanisms in the vascular myogenic response / G.A. Meininger, M.J. Davis // *Am. J. Physiol.* – 1992. – Vol. 263. – P. 647–659.
216. Mishchuk, V.V. Diagnostic significance of some indices of systemic inflammation in peritonitis / V.V. Mishchuk, O.V. Pyptiuk // *Klin. Khir.* – 2010. – Vol. 1. – P.36–39.
217. Mislin, H. Die Kontraktilen Eigenschaften der Lymphgefasse / H. Mislin // *Angiologica.* – 1971. – Bd. 8. – S. 207–211.
218. Mislin, H. Active contractility of lymphangion and coordination of lymphangion chains / H. Mislin // *Experientia.* – 1976. – Vol. 32. – P. 820–822.
219. Mislin, H. Structural and functional relations of the mesenteric lymph vessels / H. Mislin // *New trends in basis lymphology.* – 1967. – P. 87–96.

220. Miyahara, H. 5-Hydroxytryptamine-2 and -4 receptors located on bovine isolated mesenteric lymphatics / H. Miyahara, Y. Kawai, T. Ohhashi // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1994. – Vol. 271, № 1. – P. 379–385.
221. Mizuno, R. Regulation of the vasomotor activity of lymph microvessels by nitric oxide and prostaglandins / R. Mizuno, A. Koller, G. Kaley // *Am. J. Physiol.* – 1998. – Vol. 274, № 3 (2). – P. 790–796.
222. Mizuno, R. 5-Hydroxytryptamine-induced NO-dependent relaxation in isolated strips of monkey popliteal lymph nodes / R. Mizuno, T. Ohhashi // *Am. J. Physiol.* – 1995. – Vol. 268, № 6 (2). – P. 2246–2251.
223. Molecular and functional analyses of the contractile apparatus in lymphatic muscle / M. Muthuchamy, A. Gashev, N. Boswell et al. // *FASEB J.* – 2003. – Vol. 17(8). – P. 920–922.
224. Mombouli, J.V. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy / J.V. Mombouli, P.M. Vanhoutte // *J Mol Cell Cardiol.* – 1999. – Vol. 31, № 1. – P. 61–74.
225. Myogenic constriction and dilation of isolated lymphatic vessels / M.J. Davis, A.M. Davis, C.W. Ku et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009. – Vol. 296, № 2. – P. 293–302.
226. Negrini, D. Lymphatic anatomy and biomechanics / D. Negrini, A. Moriondo // *J. Physiol.* – 2011. – Vol. 589 (12). – P. 2927–2934.
227. New insights into the intracellular mechanisms by which PGI₂ analogues elicit vascular relaxation: cyclic AMP-independent, G_s-protein mediated-activation of Maxi K channel / Y. Tanaka, F. Yamaki, K. Koike et al. // *Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents.* – 2004. – Vol. 2, № 3. – P. 257–265.
228. Ohhashi, T. Sympathetic effects on spontaneous activity in bovine mesenteric lymphatics / T. Ohhashi, T. Azuma // *Am. J. Physiol.* – 1984. – Vol. 247, № 4 (2). – P. 610–615.
229. Ohhashi, T. Active and passive mechanical characteristics of bovine mesenteric lymphatics / T. Ohhashi, T. Azuma, M. Sakaguchi // *Am. J. Physiol.* – 1980. – Vol. 239, № 1. – P. 88–95.

230. Ohhashi, T. The response of lymphatic smooth muscles to vasoactive substances / T. Ohhashi, Y. Kawai, T. Azuma // *Pflugers Arch.* – 1983. – Vol. 342. – P. 217–227.
231. Ohhashi, T. Acetylcholine-induced release of endothelium-derived relaxing factor from lymphatic endothelial cells / T. Ohhashi, N. Takahashi // *Am. J. Physiol.* – 1991. – Vol. 260, № 4 (2). – P. 1172–1178.
232. Organization of Ca^{2+} stores in vascular smooth muscle: functional implications. / M.P. Blaustein, V.A. Golovina, H. Song et al. // *Novartis Found Symp.* – 2002. – Vol. 246. – P.125–137.
233. Origin of spontaneous rhythmicity in smooth muscle / N. McHale, M. Hollywood, G. Sergeant et al. // *J. Physiol.* – 2006. – Vol. 570, № 1. – P. 23–28.
234. Ozawa, T. Modulation of ryanodine receptor Ca^{2+} channels / T. Ozawa // *Mol. Med. Report.* – 2010. – Vol. 3, № 2. – P.199–204.
235. Phasic contractions of rat mesenteric lymphatics increase basal and phasic nitric oxide generation in vivo / H.G. Bohlen, W. Wang, A. Gashev et al // *Am J Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2009. – Vol. 297, №4. – P. 1319–1328.
236. Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility / H.N. Aguilar, S. Xiao, A.H. Knoll et al. // *Human Reproduction Update.* – 2010. – Vol.16 (6). – P. 725–755.
237. Plaku, K.J. Mast cell degranulation alters lymphatic contractile activity through action of histamine / K.J. Plaku, P.Y. von der Weid // *Microcirculation.* – 2006. – Vol. 13, № 3. – P. 219–227.
238. Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB produces NO-mediated relaxation and PDGF-receptor β -dependent tonic contraction in murine iliac lymph vessels / D. Maejima, Y. Kawai, K. Ajima et al. // *Microcirculation.* – 2011. – Vol. 18(6). – P. 474–486.
239. Platelets and platelet-derived serotonin promote tissue repair after normothermic hepatic ischemia in mice / A. Nocito, P. Georgiev, F. Dahm et al. // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 45(2). – P. 369–376.

240. Potentiation of platelet responses in vitro by feline infectious peritonitis virus / M.K. Boudreaux, R.C. Weiss, M. Toivio-Kinnucan et al. // *Vet Pathol.* – 1990. – Vol. 27(4). – P.261–268.
241. Predictors of insufficient amikacin peak concentration in critically ill patients receiving a 25 mg/kg total body weight regimen / E. de Montmollin, L. Bouadma, N. Gault et al. // *Intensive Care Med.* – 2014. – №40 (7). – P. 998–1005.
242. Pries, A.R. Normal endothelium / A.R. Pries, W.M. Kuebler // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 176 (1). – P. 1–40.
243. Prussin, C. "IgE, mast cells, basophils, and eosinophils" / C. Prussin, D.D. Metcalfe // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 111 (2). – P. 486–494.
244. Radenkoviä, M. Contribution of Thromboxane A₂ in Rat Common Carotid Artery Response to Serotonin / M. Radenkoviä, M. Stojanoviä, M. Topaloviä // *Sci. Pharm.* – 2010. – Vol. 78, № 3. – P. 435–443.
245. Rahbar, E. A model of a radially expanding and contracting lymphangion / E. Rahbar, J.E. Moore Jr. // *J. Biomech.* – 2011. – Vol. 44, № 5. – P. 1001–1007.
246. Rayner, S.E. Evidence that the substance P-induced enhancement of pacemaking in lymphatics of the guinea-pig mesentery occurs through endothelial release of thromboxane A₂ / S.E. Rayner, D.F. Van Helden // *Br. J. Pharmacol.* – 1997. – Vol. 121, № 8. – P. 1589–1596.
247. Razzaque, Z. Differences in the effects of ketanserin and GR127935 on 5-HT-receptor mediated responses in rabbit saphenous vein and guinea-pig jugular vein / Z. Razzaque, J. Longmore, R.G. Hill // *Eur. J. Pharmacol.* – 1995. – Vol. 283, № 1–3. – P. 199–206.
248. Reeder, L.B. Characterization of the effects of histamine in porcine tracheobronchial lymph vessels / L.B. Reeder, V.J. DeFilippi, M.K. Ferguson // *Am. J. Physiol.* – 1996. – Vol. 271, № 6 (2). – P. 2501–2507.
249. Reeder, L.B. Modulation of lymphatic spontaneous contractions by EDRF / L.B. Reeder, L.H. Yang, M.K. Ferguson // *J. Surg. Res.* – 1994. – Vol. 56, № 6. – P. 620–625.

250. Regional heterogeneity of length-tension relationships in rat lymph vessels / A.A. Gashev, R.Z. Zhang, M. Muthuchamy et al. // *Lymphat. Res. Biol.* – 2012. – Vol. 10(1). – P 14–19.
251. Regional variations of contractile activity in isolated rat lymphatics / A.A. Gashev, M.J. Davis, M.D. Delp et al. // *Microcirculation.* – 2004. – Vol. 11, № 6. – P 477–492.
252. Ress, P.E. Vaccination of all the children in the world-the goal is in sight / P.E. Ress // *Soins Gynecol. Obstet. Pueric. Pediatr.* – 1989. – Vol. 97–98. – P. 59–60.
253. Rho kinase activation and ROS production contributes to the cooling enhanced contraction in cutaneous equine digital veins / H. Zerpa, Y. Berhane, H. Woodcock et al. // *J. Appl. Physiol.* – 2010. – Vol. 109, № 1. – P. 11–18.
254. Ripoche, J. Blood platelets and inflammation. Their relationship with liver and digestive diseases / J. Ripoche // *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* – 2011. – Vol. 35(5). – P. 353–357.
255. Role of nitric oxide and other endothelium-derived factors / E. Stankevicius, E. Kevelaitis, E. Vainorius et al. // *Medicina (Kaunas).* – 2003. – Vol. 39, № 4. – P. 333–341.
256. Role of the gap junctions in the contractile response to agonists in pulmonary artery from two rat models of pulmonary hypertension. / M. Billaud, D. Dahan, R. Marthan et al. // *Respir. Res.* – 2011. – Vol. 12. – P. 30.
257. Rovenská, E. Structure and function of lymphatic capillaries in synovial joint. / E. Rovenská, J. Rovenský // *Cas. Lek. Cesk.* – 2012.– №151(11). – P. 520–522.
258. Sakai, H. Effects of endothelin on spontaneous contractions in lymph vessels / H. Sakai, F. Ikomi, T. Ohhashi // *Am. J. Physiol.* – 1999. – P. 459–466.
259. Sanders, K.M. Regulation of smooth muscle excitation and contraction / K.M. Sanders // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2008. – Vol. 20 (1). – P. 39–53.
260. Schipp, R. Structure and ultrastructure of mesenteric lymphatic vessels / R. Schipp // *New trend in basic lymphology.* Stuttgart. – 1967. – P. 50–57.

261. Schneider, E. Histamine, Immune Cells and Autoimmunity / E. Schneider, M. Leite-de-Moraes, M. Dy // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2011. – Vol. 709. – P. 81–94.
262. Selective regulation of H₁ histamine receptor signaling by G protein-coupled receptor kinase 2 in uterine smooth muscle cells / J.M. Willets, A.H. Taylor, H. Shaw et al. // *Mol. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 22, № 8. – P. 1893–1907.
263. Serotonergic effects of dotarizine in coronary artery and in oocytes expressing 5-HT₂ receptors / C. Montiel, C.J. Herrero, E. García-Palomero et al. // *Eur. J. Pharmacol.* – 1997. – Vol. 332, № 2. – P. 183–193.
264. Significance and creation of novel cyclooxygenase-1 (COX-1) selective inhibitors / R. Fukai, X. Zheng, K. Motoshima et al. // *Yakugaku Zasshi.* – 2011. – Vol. 131, №3. – P. 347–351.
265. Spontaneous transient depolarizations in lymphatic vessels of the guinea pig mesentery: pharmacology and implication for spontaneous contractility / P.Y. VonderWeid, M. Rahman, M.S. Imtiaz et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2008. – Vol. 295, № 5. – P. 1989–2000.
266. Stevens-Felten, S.Y. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid organs / S.Y. Stevens-Felten, D.L. Bellinger // *Chem. Immunol.* – 1997. – Vol. 69. – P. 99–131.
267. Stewart Intrinsic pump-conduit behavior of lymphangions / C.M. Quick, A.M. Venugopal, A.A. Gashev et al. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007. – №292. – P. 1510–1518.
268. Subendothelial nerve fibers in bovine mesenteric lymphatics: an ultrastructural and immunohistochemical study / G. Sacchi, E. Weber, M. Aglianó et al. // *Lymphology.* – 1994. – Vol. 27, № 2. – P. 90–96.
269. Substance P and gastrin releasing peptide in bovine mesenteric lymphatic vessels: chemical characterization and action / Foy W.L., Allen J.M., McKillop J.M. et al. // *Peptides.* – 1989. – № 10(3). – P. 533–537.
270. Takahashi, N. Effects of vasoconstrictive and vasodilative agents on lymphatic smooth muscles in isolated canine thoracic ducts / N. Takahashi, Y.

- Kawai, T. Ohhashi // *J. Pharmacol Exp. Ther.* – 1990. – Vol. 254, № 1. – P. 165–170.
271. Takeshita, K. Critical role of L-selectin and histamine H₄ receptor in zymosan-induced neutrophil recruitment from the bone marrow: comparison with carrageenan / K. Takeshita, K.B. Bacon, F. Gantner // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2004. – Vol. 310, № 1. – P. 272–280.
272. Taylor, C.W. IP₃ receptors: toward understanding their activation / C.W. Taylor, S.C. Tovey // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2010. – Vol. 2, № 12. – P. 4010.
273. The lignaneudesmin extracted from *Piper truncatum* induced vascular relaxation via activation of endothelial histamine H₁ receptors / Raimundo J.M., Trindade A.P., Velozo L.S. et al. // *Eur. J. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 606, № 1–3. – P. 150–154.
274. Török, J. Histamine-induced relaxation in pulmonary artery of normotensive and hypertensive rats: relative contribution of prostanoids, nitric oxide and hyperpolarization / J. Török // *Physiol. Res.* – 2000. – Vol. 49. – P. 107–114.
275. Tsunemoto, H. Flow-mediated release of nitric oxide from lymphatic endothelial cells of pressurized canine thoracic duct / H. Tsunemoto, F. Ikomi, T. Ohhashi // *Jpn. J. Physiol.* – 2003. – Vol. 53, № 3. – P. 157–163.
276. Van Helden, D.F. Pacemaker potentials in lymphatic smooth muscle of the guinea-pig mesentery // *J. Physiol.* – 1993. – Vol. 471. – P. 465–479.
277. Van Helden, D.F. Neuropeptide Y enhances pacemaking in smooth muscle of guinea-pig mesenteric lymphatics / D.F. Van Helden, N. Bull // *Proc. Austral. Physiol. Pharmacol. Soc.* – 1995. – Vol. 26. – P. 130.
278. Vanhoutte, P.M. Platelet-derived serotonin, the endothelium, and cardiovascular disease / P.M. Vanhoutte // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1991. – Vol. 17 (5). – P. 6–12.
279. Vanhoutte, P.M. Regeneration of the endothelium in vascular injury / P.M. Vanhoutte // *Cardiovasc. Drugs Ther.* – 2010. – Vol. 24(4). – P. 299–303.

280. Von der Weid, P.Y. ATP-sensitive K^+ channels in smooth muscle cells of guinea-pig mesenteric lymphatics: role in nitric oxide and beta-adrenoceptor agonist-induced hyperpolarizations / P.Y. von der Weid // *Br. J. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 125, № 1. – P 17–22.
281. Von der Weid, P.Y. Effects of 5-HT and histamine on the contractile and electrical activity of lymphatic vessels / P.Y. von der Weid, A.K. Chan, J.R. Fox // *proceedings of the 7th World Congress for Microcirculation.* – Sydney: Science MED, 2001. – P. 591–596.
282. Von der Weid, P.Y. Regulatory mechanisms in lymphatic vessel contraction under normal and inflammatory conditions / P.Y. von der Weid, M. Muthuchamy // *Pathophysiology.* – 2010. – Vol. 17(4). – P. 263–276.
283. Von der Weid P.Y. Functional electrical properties of the endothelium in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery / P.Y. von der Weid, D.F. van Helden // *J. Physiol.* – 1997. – Vol. 504 (2). – P. 439–451.
284. Von der Weid, P.Y. Lymphatic smooth muscle: the motor unit of lymph drainage / P.Y. von der Weid, D.C. Zawieja // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2004. – Vol. 36, № 7. – P. 1147–1153.
285. Von der Weid, P.Y. Endothelium-dependent modulation of pacemaking in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery / P.Y. von der Weid, M.J. Crowe, D.F. van Helden // *J. Physiol.* – 1996. – Vol. 493 (2). – P. 563–575.
286. Von der Weid P.Y. Lymphatic pump function in the inflamed gut / P.Y. Von der Weid, S. Rehal // *Ann. N. Y. Acad Sci.* – 2010. – Vol. 1207 (1). – P. 69–74.
287. Watanabe, N. Dual effects of histamine on spontaneous activity in isolated bovine mesenteric lymphatics / N. Watanabe, Y. Kawai, T. Ohhashi // *Microvasc. Res.* – 1988. – Vol. 36, № 3. – P. 239–249.
288. Wibo, M. Comparative localization of inositol 1,4,5-trisphosphate and ryanodine receptors in intestinal smooth muscle: an analytical subfractionation study / M. Wibo, . T. Godfraind // *Biochem. J.* – 1994. – Vol. 297. – P. 415–423.

289. Wiederhielm, C.F. Microvascular, lymphatic and tissue pressure in unanesthetized mammal / C.F. Wiederhielm, B. Weston // *Am. J. Physiol.* – 1973. – Vol. 225, № 4. – P. 992–996.
290. Wilting, J. The lymphatic vascular system: secondary or primary? / J. Wilting, M. Papoutsis, J. Becker // *Lymphology.* – 2004. – Vol. 37, № 3. – P. 98–106.
291. Yang, M.T. Measurement and analysis of traction force dynamics in response to vasoactive agonists / M.T. Yang, D.H. Reich, C.S. Chen // *Integr. Biol. (Camb).* – 2011. – Vol. 3, № 6. – P. 663–674.
292. Yoffey, J. Lymphatics, lymph and lymphomyeloid complex / J. Yoffey, F. Couptice. – London, New York: Acad. Press, 1970. – 352 p.
293. Yokoyama, S. Effects of acetylcholine on spontaneous contractions in isolated bovine mesenteric lymphatics / S. Yokoyama, T. Ohhashi // *Am. J. Physiol.* – 1993. – Vol. 264, №5 (2). – P. 1460–1464.
294. Zawieja, D.C. Coordination of lymphangion contractile activity / D.C. Zawieja, K.L. Davis, H.J. Greger // *FASEB J.* – 1989. – Vol. 3, № 3. – P. 271.
295. Zawieja, D.C. Axial distribution of contractile forces in rat mesenteric lymphatics / D.C. Zawieja, W.M. Hinds, H.J. Greger // *FASEB J.* – 1990. – Vol. 4, № 4. – P. 1278.
296. Zawieja, D.C. Lymphatic biology and the microcirculation: past, present and future / D. Zawieja // *Microcirculation.* – 2005. – Vol. 12, № 1. – P. 141–150.
297. Zhang, J. The role of the microlymphatic valve in the propagation of spontaneous rhythmical lymphatic motion in rat / J. Zhang, H. Li, R. Xiu // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2000. – Vol. 23, № 2–4. – P. 349–353.
298. Zhang, R.Z. Length-tension relationships of small arteries, veins, and lymphatics from the rat mesenteric microcirculation / R.Z. Zhang, A.A. Gashev, D.C. Zawieja // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2007. – Vol. 292(4). – P. 1943–1952.

299. Zhang, D.X. Mechanisms of histamine-induced relaxation in bovine small adrenal cortical arteries / D.X. Zhang, K.M. Gauthier, W.B. Campbell // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2005. – Vol.289, №6. – P. 1058–1063.
300. Zhao, J. ATP-induced endothelium-independent enhancement of lymphatic vasomotion in guinea-pig mesentery involves P2X and P2Y receptors / J. Zhao, D.F. van Helden // *Br. J. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 137, № 4. – P. 477–487.
301. Zhao, J. ET-1-associated vasomotion and vasospasm in lymphatic vessels of the guinea-pig mesentery / J. Zhao, D.F. van Helden // *Br. J. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 140, № 8. – P. 1399–1413.